

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO – UNIFESP
INSTITUTO DE CIENCIAS AMBIENTAIS, QUÍMICAS E FARMACÊUTICAS

LÍGIA SCANDOGLIERI DE ALMEIDA

**ESTUDO VOLTAMÉTRICO DE NOVOS ANÁLOGOS DO
NITROFURAL EM MEIO AQUOSO COM POTENCIAL ATIVIDADE
ANTICHAGÁSICA**

Diadema, 2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO – UNIFESP
INSTITUTO DE CIENCIAS AMBIENTAIS, QUÍMICAS E FARMACÊUTICAS

LÍGIA SCANDOGlieri DE ALMEIDA

**ESTUDO VOLTAMÉTRICO DE NOVOS ANÁLOGOS DO
NITROFURAL EM MEIO AQUOSO COM POTENCIAL ATIVIDADE
ANTICHAGÁSICA**

Trabalho de conclusão da unidade curricular
Projetos Dirigidos em Química, como requisito
parcial para a obtenção do grau de Bacharel em
Química.

Prof.^o. Dr.^o MAURO AQUILES LA SCALEA
Orientador

Diadema, 2021

Dados Internacionais da Catalogação na Publicação (CIP)

Almeida, Lígia Scandoglieri de

Estudo voltamétrico de novos análogos do nitrofural em meio aquoso com potencial atividade antichagásica / Lígia Scandoglieri de Almeida. – – Diadema, 2021.

43 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) -
Universidade Federal de São Paulo - Campus Diadema, 2021.

Orientador: Mauro Aquiles La Scalea

1. Antichagásico. 2. Nitro-heterocíclico. 3. Nitrofural. 4.
Voltametria Cíclica. 5. Nitro anião radical. I. Título.

DEDICATÓRIA

Para minha mãe, Milva, meu pai, Valter, e minha irmã, Luiza, inspirações da mais profunda sabedoria e dedicação.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Milva e Valter, pelo apoio incondicional proporcionado e toda dedicação e incentivo em todas as etapas da minha vida.

A minha irmã, Luiza, minha maior fonte de inspiração e companheirismo, por me fazer acreditar mesmo os momentos mais adversos são recompensadores.

Ao meu orientador, Professor Dr. Mauro Aquiles La Scalea, que esteve sempre à disposição em todas as horas, pela oportunidade deste aprendizado e por toda experiência compartilhada.

A todos os colegas do LABEE-BIA, por toda a solidariedade e ajuda prestada em todos os instantes.

Aos meus queridos grandes amigos da UNIFESP, Ana, Erika, Mikaela e Victor, minhas principais fontes de equilíbrio e paz em todas as circunstâncias do cotidiano acadêmico. É impossível imaginar este período sem vivenciar a fases que passamos em conjunto.

A todos os funcionários da UNIFESP que, de alguma forma, proporcionaram condições e um ambiente em que este trabalho pudesse ser realizado.

RESUMO

Sabendo que a quimioterapia atual para a doença de Chagas é tida como ultrapassada e muito tóxica e visando fármacos mais ativos com menos efeitos nocivos para tratamento desta doença, desperta-se o interesse em compostos nitro-heterocíclicos, como o nitrofural (NF), que apresentam esta atividade antichagásica em potencial. A redução eletroquímica destes compostos leva à formação do nitro radical aniônico ($R-NO_2^{\bullet-}$) e do derivado hidroxilamínico ($R-NHOH$), que são considerados os principais responsáveis pela atividade biológica. Compreendendo que as técnicas eletroquímicas são uma excelente alternativa para o estudo de fármacos eletroativos que possuam como característica de sua ação biológica processos de transferência de carga, como no caso destes compostos, o comportamento eletroquímico dos derivados sulfonil-hidrazona (NFBS) e nitrofurânico (NTBS), análogos ao NF, foram estudados por voltametria cíclica, em meio aquoso, utilizando carbono vítreo (ECV) como eletrodo de trabalho. Observou-se, em pH 4,0, a formação de um pico catódico irreversível, correspondente à redução do grupo nitro ($R-NO_2$) ao derivado hidroxilamínico ($R-NHOH$) com o envolvimento de quatro elétrons ($E_{cp1} = -0,396$ V, NTBS; $E_{cp1} = -0,355$ V, NFBS), sendo que em ambos os casos este pico é deslocado no sentido negativo de potencial com aumento da velocidade de varredura (v). A relação entre I_{p1} vs $v^{1/2}$ de cada composto se mostrou linear ($I_{p1} = 2,42 \times 10^{-6} - 3,16 \times 10^{-5}v^{1/2}$, NTBS; $I_{p1} = 4,48 \times 10^{-6} - 3,85 \times 10^{-5}v^{1/2}$ - NFBS), indicando processo controlado por difusão. Com a variação do pH, E_{p1} foi deslocado linearmente nos dois análogos ($E_{p1} = -0.21 - 0.045$ pH, NTBS; $E_{p1} = -0.155 - 0.0532$ pH, NFBS) para valores mais negativos de potencial com diminuição da acidez do meio, indicando a existência de etapa de protonação anterior ao processo de transferência de carga. Em meio alcalino, há uma nítida mudança de comportamento em ambos os compostos e, de forma similar ao nitrofural, observou-se a formação do par reversível $R-NO_2/R-NO_2^{\bullet-}$ em pH 12 ($E_{cp1} = -0,577$ V e $E_{ap1} = -0,468$ V, NTBS; $E_{cp1} = -0,553$ V e $E_{ap1} = -0,460$ V, NFBS).

Palavras chave: Antichagásico, nitro-heterocíclico, nitrofural, voltametria cíclica, nitro ânion radical.

ABSTRACT

Knowing that the current chemotherapy for Chagas disease is considered to be outdated and very toxic and targeting more active drugs with fewer harmful effects for the treatment of this disease, interest is aroused in nitro-heterocyclic compounds, such as nitrofural (NF), which present this potential antichagasic activity. The electrochemical reduction of these compounds leads to the formation of nitro anion radical ($R-NO_2^{\bullet-}$) and hydroxyminic derivative ($R-NHOH$), which are considered the main responsible for biological activity. Understanding that electrochemical techniques are an excellent alternative for the study of electroactive drugs that have as characteristic of their biological action load transfer processes, as in the case of these compounds, the electrochemical behavior of sulfonyl hydrazone (NFBS) and nitrofuranic (NTBS) derivatives, analogous to NF, were studied by cyclic voltammetry, in aqueous medium, using glassy carbon electrode (ECV) as a working electrode. At pH 4.0, the formation of an irreversible cathodic peak was observed, corresponding to the reduction of the nitro group ($R-NO_2$) to the hydroxylamine derivative ($R-NHOH$) with the involvement of four electrons ($E_{cp1} = -0.396$ V, NTBS; $E_{cp1} = -0.355$ V, NFBS), and in both cases this peak is moved in the negative direction of potential with increased scanning speed (v). The relationship between I_{p1} vs $v^{1/2}$ of each compound was linear ($I_{p1} = 2.42 \times 10^{-6} - 3.16 \times 10^{-5}v^{1/2}$, NTBS; $I_{p1} = 4.48 \times 10^{-6} - 3.85 \times 10^{-5}v^{1/2}$, NFBS), indicating diffusion controlled process. With the pH variation, E_{p1} was linearly displaced in the two analogues ($E_{p1} = -0.21 - 0.045$ pH, NTBS; $E_{p1} = -0.155 - 0.0532$ pH, NFBS) for more negative potential values with decreased acidity of the medium, indicating the existence of protonation stage prior to the load transfer process. In alkaline medium, there is a clear change in behavior in both compounds and, similarly to NF, the formation of the reversible pair $R-NO_2/R-NO_2^{\bullet-}$ was observed at pH 12 ($E_{cp1} = -0.577$ V e $E_{ap1} = -0.468$ V, NTBS; $E_{cp1} = -0.553$ V e $E_{ap1} = -0.460$ V, NFBS).

Keywords: Antichagasic, nitroheterocyclic, nitrofural, cyclic voltammetry, nitro anion radical.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Doença de Chagas	1
1.2 Nitro-heterocíclicos	4
1.3 Redução eletroquímica de compostos nitro-heterocíclicos	6
1.4 Técnicas eletroquímicas	10
1.4.1 Voltametria cíclica	11
2. OBJETIVOS	14
3. MATERIAIS E MÉTODOS	15
3.1 Medidas eletroquímicas e sistema de eletrodos	15
3.2 Medidas de pH e efeitos do meio	15
3.3 Reagentes e soluções	16
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	17
4.1 Estudo inicial do comportamento voltamétrico dos derivados	17
4.2 Estudo da influência da velocidade de varredura	18
4.3 Estudo da influência do pH	22
4.4 Análise dos compostos sem grupo nitro	24
4.5 Avaliação do uso de eletrodo de grafite	26
5. CONCLUSÃO	27
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química dos fármacos atualmente empregados no tratamento da doença de Chagas.	3
Figura 2. Estrutura do Nitrofuril.	4
Figura 3. Estruturas dos derivados estudados por Gatti e colaboradores, análogos do Nitrofuril.	5
Figura 4. Aplicação do potencial para voltametria cíclica e exemplo de voltamograma genérico obtido para um sistema reversível.	12
Figura 5. Fórmulas estruturais do (A) NTBS (4-metil-N-[(E)-(5-nitro-2-tienil) metilenoamino] benzenosulfonamida), e do (B) NFBS (4-metil-N-[(Z)-(5-nitro-2-furil) metilenoamino] benzenosulfonamida).	14
Figura 6. Voltamogramas cíclicos do (A) NTBS e (B) NFBS registrados em pH 4,0; [NTBS]= $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$, [NFBS]= $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$; $v = 0,1 \text{ Vs}^{-1}$; $E_{\text{inicial}} = 0,5 \text{ V}$, $E_{\text{final}} = -1,0 \text{ V}$	17
Figura 7. Voltamogramas cíclicos do (A) NTBS e (B) NFBS registrados em pH 4,0 com diferentes velocidades de varredura, [NTBS] = $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ e [NTBS] = $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$; $E_{\text{inicial}} = 0,5 \text{ V}$, $E_{\text{final}} = -1,0 \text{ V}$	18
Figura 8. Gráfico de corrente de pico de E_{cpl} em função da raiz quadrada de velocidade de varredura do (A) NTBS e (B) NFBS. [NTBS] = $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ ($R = -0,99647$); [NFBS] = $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ ($R = -0,99229$), em pH 4,0.	19
Figura 9. Gráfico de potencial de pico em função do logaritmo natural da velocidade de varredura com polimento do ECV do (A) NTBS e (B) NFBS. [NTBS] = $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ ($R = -0,9931$); [NFBS] = $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ ($R = -0,9889$).	21
Figura 10. Voltamogramas cíclicos do (A e C) NTBS e (B e D) NFBS registrados em meio ácido, duas figuras acima, e meio alcalino, duas figuras abaixo; [NTBS] = $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$; [NFBS] = $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$; $E_{\text{inicial}} = 0,5 \text{ V}$, $E_{\text{final}} = -1,0 \text{ V}$; $v = 0,1 \text{ Vs}^{-1}$	22
Figura 11. Valores dos potenciais de pico em função do pH, (A) NTBS e (B) NFBS; [NTBS] = $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$; [NFBS] = $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$	23
Figura 12. Voltamogramas cíclicos do (A) NTBS e (B) NFBS em pH 12,0 a diferentes velocidades de varredura; [NTBS] = $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$; [NFBS] = $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$; $v = 0,1 \text{ Vs}^{-1}$; $E_{\text{inicial}} = -0,2 \text{ V}$; $E_{\text{final}} = -0,7 \text{ V}$	24

Figura 13. Fórmula estrutural do (A) NTBS sem grupo nitro (4-metil-N-[(Z)-2-tienil) metilenoamino] benzenosulfonamida e do (B) NFBS sem grupo nitro (4-metil-N-[(Z)-2-furil)metilenoamino] benzenosulfonamida).25

Figura 14. Em destaque, voltamogramas cíclicos do (A) NTBS sem nitro e (B) NFBS sem nitro registrados em pH 4,0; [NTBS sem grupo nitro] = $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$; [NFBS sem grupo nitro] = $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$; $v = 0,1 \text{ Vs}^{-1}$; $E_{\text{inicial}} = 0,5 \text{ V}$, $E_{\text{final}} = -1,0 \text{ V}$. Voltamogramas cíclicos em escala menor mostrados anteriormente na Figura 6, (A) NTBS e (B) NFBS registrados em pH 4,0; [NTBS]= $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$, [NFBS]= $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$; $v = 0,1 \text{ Vs}^{-1}$; $E_{\text{inicial}} = 0,5 \text{ V}$, $E_{\text{final}} = -1,0 \text{ V}$25

Figura 15. Voltamogramas cíclicos do NTBS (A) e NFBS (B) registrados em pH 4,0; [NTBS] = $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$; [NFBS] = $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$; $v = 0,1 \text{ Vs}^{-1}$; $E_{\text{inicial}} = 0,5 \text{ V}$, $E_{\text{final}} = -1,0 \text{ V}$; com eletrodo de grafite.26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultados dos ensaios biológicos dos derivados sintetizados, a 100 $\mu\text{mol/L}$, avaliados como inibidores do crescimento celular frente à forma epimastigota do <i>T. cruzi</i> e ensaios de IC_{50} em cruzaína.....	6
Tabela 2. Estudos sobre a geração do nitro ânion radical a partir do Nitrofural por voltametria cíclica.....	8
Tabela 3. Resultados da voltametria cíclica do NTBS em pH 4	20
Tabela 4. Resultados da voltametria cíclica do NFBS em pH 4.....	20
Tabela 5. Valores calculados de αn e k_0 para o NTBS e NFBS	21

LISTA DE SIMBOLOS

$R-NO_2^{\bullet-}$	Nitro radical aniônico
R-NHOH	Derivado hidroxilamínico
NFBS	4-metil-N-[(E)-(5-nitro-2-tienil) metilenoamino] benzenosulfonamida
NTBS	4-metil-N-[(Z)-(5-nitro-2-furil) metilenoamino] benzenosulfonamida
ECV	Eletrodo de carbono vítreo
R-NO ₂	Grupo nitro
E_{cp}	Potencial de pico catódico
E_{ap}	Potencial de pico anódico
v	Velocidade de varredura
I_{cp}	Corrente de pico catódica
I_{ap}	Corrente de pico anódica

1. INTRODUÇÃO

1.1 Doença de Chagas

A doença de Chagas, que leva o nome do pesquisador brasileiro Carlos Ribeiro Justiniano Chagas, o qual descobriu a doença em 1909, é uma doença tropical causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* e é considerada negligenciada pela Organização Mundial da Saúde.¹ Hoje existem aproximadamente oito milhões de pessoas infectadas pela doença de Chagas em 21 países da América Latina e cerca de seis a sete milhões em todo o mundo. Além disso, estima-se que 70 milhões de pessoas estejam em risco de contrair a doença. Também calcula-se que esta doença seja a causa de catorze mil mortes por ano na região.^{1,2,3}

Na América Latina, os parasitas do *T. cruzi* são transmitidos principalmente pelo contato com fezes ou urina de insetos triatomíneos infectados, amplamente conhecidos como barbeiro, mas chamado também de chupão, procotó ou bicudo.^{1,2,3} Esses insetos, os quais são vetores que carregam os parasitas, normalmente vivem nas fendas das paredes, telhados das casas ou outras estruturas peridomiciliares, como galinheiros, currais e galpões, em áreas rurais ou até mesmo urbanas. Normalmente, ficam reclusos durante o dia e tornam-se ativos à noite quando se alimentam de sangue de mamíferos, incluindo também neste caso, sangue humano. Estes triatomíneos comumente picam uma área exposta da pele, como o rosto, por exemplo, e o inseto defeca ou urina perto da picada. Desta forma, caso o inseto esteja infectado com este parasita, ao arranhar ou coçar esta região afetada com as fezes ou a urina do inseto, os parasitas entram em contato com a corrente sanguínea, ou também com a área dos olhos, da boca ou mucosas, a transmissão pode ocorrer.^{1,3}

Além desta transmissão vetorial, exemplificada no parágrafo anterior, outras vias de contaminação também são possíveis como por exemplo, pela passagem de parasitas de mulheres infectadas por *T. cruzi* para seus bebês durante a gravidez ou o parto, também através da transfusão de sangue ou transplante de órgãos de doadores infectados para receptores saudáveis, ou ainda, pelo contato acidental de pele ferida ou de mucosas com material contaminado com o parasita.^{1,2,3}

Ademais, dentre as maneiras possíveis de contaminação, hoje, a transmissão da doença de Chagas por via oral é considerada o mecanismo primário para obtenção da doença.⁴ Desde a

década de 1960 há relatos da transmissão e consequentemente, da posterior ocorrência de surtos da doença de Chagas através da ingestão de alimento contaminado.⁴

Trabalhos recentes ressaltam este tipo de transmissão através de contaminações na comida, que podem ocorrer através de fezes de inseto contaminadas com o *T. cruzi* em contato com o alimento ou também quando estes insetos contaminados são triturados durante o processamento de frutas.^{4,5} Neste último, destacam-se casos de contaminação por caldo de cana de açúcar e também açaí, que é o alimento com maior número de casos de doença de Chagas associados à infecção aguda, na região norte do Brasil nos últimos anos.⁵ Apesar destas duas circunstâncias de contágio serem mais difundidas, em áreas de presença do parasita em animais selvagens ou insetos triatomíneos, não é segura qualquer etapa de preparação de alimento⁴, seja ele qual for, pois há evidências de que água, leite pasteurizado, carne moída crua ou cozida, queijo fresco e arroz cozido, quando expostos a fezes de insetos contaminados com *T. cruzi* puderam transmitir a doença de Chagas por via oral e contaminar ratos⁶, além de vários tipos de frutas e vegetais, nos quais há registros de sobrevivência do parasita sobre estes.⁷ É interessante colocar em pauta que a importação de comida contaminada com o parasita pode levar a transmissão de doença de Chagas para outras áreas, como América do norte e Europa.⁴

A doença de Chagas pode se apresentar em duas fases, sendo que a primeira, ou a fase aguda inicial, dura cerca de dois meses após a infecção. Durante esta fase, um grande número de parasitas circula no sangue, porém na grande maioria dos casos, os sintomas são ausentes ou leves e inespecíficos.^{1,2,4} Em menos da metade das pessoas picadas por um inseto triatomíneo infectado, os primeiros sinais característicos podem variar de lesões na pele ou um inchaço púrpuro na pálpebra de um dos olhos. Além disso, sintomas de febre, dor de cabeça, aumento dos gânglios linfáticos, palidez, dores musculares, dificuldade respiratória, inchaço e dores abdominais ou torácicas também podem ocorrer.^{1,2,4}

Já durante a fase crônica, os parasitas ficam localizados principalmente no coração e nos músculos digestivos. Nesta fase, até 30% dos pacientes sofrem de doenças cardíacas e até 10% sofrem de alterações digestivas, neurológicas ou mistas. Esta infecção pelo *T. Cruzi* pode levar à morte súbita devido a arritmias cardíacas ou insuficiência cardíaca progressiva causada pela destruição do músculo cardíaco e de seu sistema nervoso em anos posteriores.¹

Atualmente, esta patologia possui dois únicos fármacos licenciados para tratamento, o Nifurtimox e o Benznidazol (Figura 1).⁸ Estes dois, ambos agentes heterocíclicos, são eficazes apenas durante a fase aguda da doença, contra a forma circulante do parasita (tripomastigotas), mas não durante a fase crônica.⁹ Nos EUA, esses fármacos não são aprovadas pelo FDA (Food and Drug Administration) e estão disponíveis apenas nos Centros de Doenças Controle e Prevenção (CDC) sob protocolos experimentais.⁸ No Brasil, a produção de Nifurtimox foi interrompida em 1997, devido a registros de efeitos colaterais sérios e resultados discrepantes de sua eficácia, seguido também por outros países da América Latina, como a Argentina, Chile e Uruguai. No presente momento, o Benznidazol é o único tratamento disponível comercialmente na maioria dos países endêmicos, inclusive no Brasil.⁸

Além disso, ambos os fármacos possuem frequentes efeitos colaterais negativos. Para o Nifurtimox destacam-se anorexia, perda de peso, alterações psíquicas, excitabilidade ou sonolência e complicações digestivas, tais como náuseas, vômitos, cólicas intestinais e diarreia, além de erupções cutâneas, neurite periférica, depressão da medula óssea e perda de memória.⁸ Já para o Benznidazol, os efeitos colaterais e contra-indicações mais importantes incluem dermatite, complicações no sistema digestivo, como vômitos e dor abdominais, polineurite e depressão da medula óssea. Outros efeitos colaterais como anorexia, dor de cabeça, fadiga, mialgia e insônia também foram relatados.⁸

Neste contexto, sabe-se que ainda há muito a ser feito com relação à quimioterapia da doença de Chagas, uma vez que, também sendo considerada uma doença negligenciada, a pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos para combate a estas doenças é de pouco interesse das empresas farmacêuticas.^{10,11}

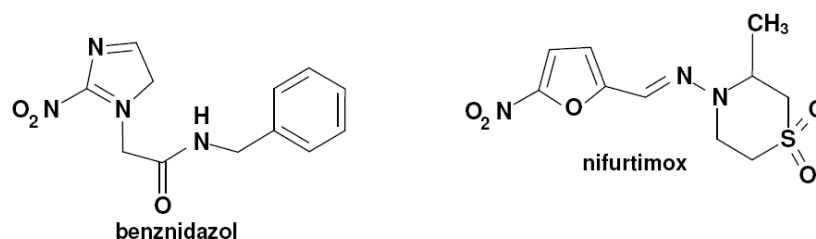


Figura 1. Estrutura química dos fármacos atualmente empregados no tratamento da doença de Chagas.

1.2 Nitro-heterocíclicos

Uma vez conhecida esta necessidade por novos fármacos mais eficazes e menos tóxicos, há um grande interesse entre pesquisadores de diferentes áreas de todo o mundo em compostos nitro-heterocíclicos, já que esta classe de compostos continua a apresentar promissora atividade antichagásica.^{12,13} Em especial nesta classe de compostos, o nitrofural (5-nitro-2-furaldeído semicarbazona), Figura 2, sintetizado durante a década de 40, foi o primeiro derivado nitrofurânico sintetizado e utilizado como fármaco, possuindo também registros de ação antiprotozoária.^{14,15}

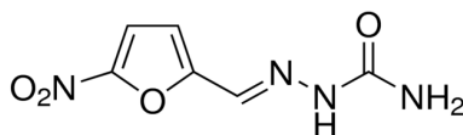


Figura 2. Estrutura do Nitrofural.

Visando um fármaco mais ativo e menos nocivo ao ser humano, diversos análogos de nitrofural têm sido obtidos por bioisosterismo¹⁶, estratégia importante para obtenção de fármacos com atividade antichagásica em potencial com menores efeitos adversos e menor efeito tóxico.^{17,18,19} Analisando a estrutura deste composto já existente e desenvolvendo substâncias análogas, evita-se o custo do desenvolvimento de um composto ativo totalmente novo.

Neste contexto, diversos compostos nitroheterocíclicos vem sendo sintetizados e parecem ser promissores candidatos a fármacos antichagásicos, incluindo análogos Nitro-Aril, indazol, tiazol, triazol, benzofuroxano e derivados de furoxano.²⁰ Alguns autores relataram novos análogos do Benznidazol com atividade frente ao parasita *T. cruzi*. Olmo e colaboradores projetaram, sintetizaram e avaliaram uma pequena série de quatro novos análogos de ftalazina contendo imidazol com grupos nitro no anel de benzeno obtendo resultados promissores para um dos compostos frente a diferentes formas do parasita.²¹ Em outro estudo, Almeida et al. reportaram uma outra série de dez novos compostos nitroaromáticos com esta atividade, na qual um dos compostos também apresentou efeito *in vivo* quando avaliado em animais infectados com a cepa Y do *T. cruzi*.²² Gomes e colaboradores projetaram, sintetizaram e avaliaram uma série de 20 novos análogos de nitro

tiazol. Dentre os quatro compostos mais promissores, dois possuíam o nitro, apresentando atividade contra as formas tripomastigotas do *T. Cruzi*.²³

Adicionalmente, Silva e colaboradores exibiram uma nova série de análogos 1,2,4-triazólicos, sendo que o composto mais promissor, um análogo ao Benznidazol, obteve um valor de IC₅₀ semelhante ao deste fármaco. Os mesmos pesquisadores estudaram um composto idêntico a este primeiro mencionado, porém sem a presença do grupo nitro no anel heterocíclico. Esta substância sem este grupamento também reduziu a atividade do parasita, contudo obteve um valor de IC₅₀ bastante superior. Portanto, a presença de um grupo nitro neste caso foi de extrema importância para a atividade antichagásica.²⁴ Arias e colaboradores caracterizaram e avaliaram biologicamente uma série de 13 novos compostos de derivados do ácido 5-nitro-2-furóico contra formas epimastigotas do *T. cruzi*. Um destes compostos demonstrou uma potente capacidade de inibição parasitária e foi também um excelente inibidor da tripanotiona redutase quando comparado com o Nifurtimox.²⁵

Em destaque, análogos do nitrofural têm sido sintetizados e estudados com o objetivo de se obter compostos com maior atividade antichagásica e menor toxicidade por Gatti e colaboradores.¹⁸ Os derivados mostrados abaixo, Figura 3, foram avaliados frente às formas celulares epimastigota do *T. cruzi*, apresentando atividade inibitória de crescimento celular a 100 µmol/L, de acordo com a Tabela 1, além de ensaios de IC₅₀ (valor da concentração inibitória de 50%) frente à cruzaina, uma enzima presente em todos os estágios evolutivos do parasita, desempenhando diversas funções essenciais deste, sendo um interessante alvo na procura de novos fármacos.¹⁸

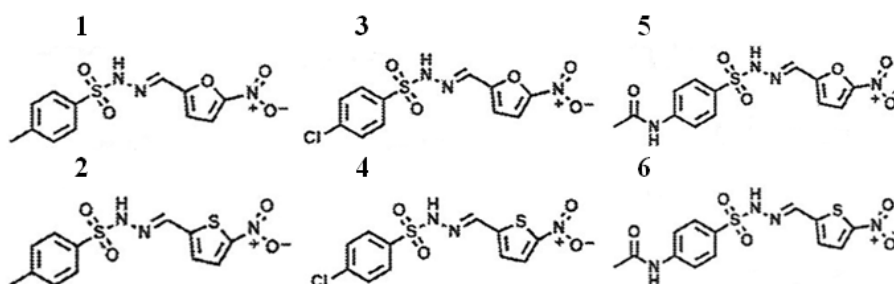


Figura 3. Estruturas dos derivados estudados por Gatti e colaboradores, análogos do Nitrofural.

Tabela 1. Resultados dos ensaios biológicos dos derivados sintetizados, a 100 $\mu\text{mol/L}$, avaliados como inibidores do crescimento celular frente à forma epimastigota do *T. cruzi* e ensaios de IC_{50} em cruzaina.

<i>Derivados</i>	1	2	3	4	5	6
<i>IC_{50} (μM)</i>	92,2 \pm 1,3	102,6 \pm 1,6	111,5 \pm 0,8	88,3 \pm 1,7	85,9 \pm 1,0	109,7 \pm 0,7
<i>% de inibição a 100 $\mu\text{mol/L}$</i>	93,0	97,6	96	95,0	92,8	95,5

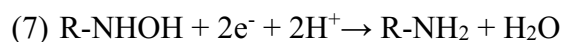
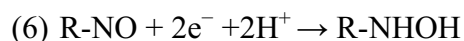
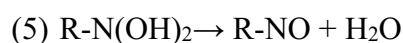
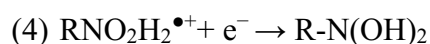
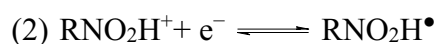
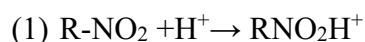
Estes compostos, Figura 3 e Tabela 1, todos com grupamento nitro, apresentaram porcentagens de inibição bastante expressivas, maiores que 90%, nessa concentração utilizada. De forma complementar, estes derivados foram os únicos a obter valores de IC_{50} , uma vez que os compostos sem essa função orgânica (grupo nitro) não alcançaram essa porcentagem de inibição.¹⁸

Neste âmbito, a ação biológica em moléculas baseada em processos de transferência de carga pode ser uma propriedade físico-química de suma importância na descoberta de novas moléculas biologicamente ativas, assim, técnicas eletroquímicas apresentam-se como excelente alternativa para estudo de fármacos eletroativos. Estas técnicas vêm sendo aplicadas a fim de compreender melhor os mecanismos de ação destas moléculas bioativas ou na intenção de correlacionar o comportamento eletroquímico de compostos tripanomicidas e sua atividade biológica, especialmente em nitrocompostos.²⁶

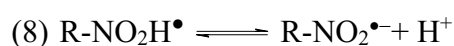
1.3 Redução eletroquímica de compostos nitro-heterocíclicos

Se tratando dos nitrocompostos, dois mecanismos são aceitos para sua ação tripanomicida. O primeiro assume que a produção do nitro ânion radical age sobre o parasita por meio de estresse oxidativo devido à formação de radicais livres (na presença de oxigênio). Já no segundo mecanismo, a molécula bioativa atua pela ligação de seus metabólitos com o DNA nuclear do parasita, agindo também sobre lipídeos e proteínas.²⁷ Com efeito, o derivado hidroxilamínico e o nitro ânion radical são aceitos como os principais responsáveis pela ação citotóxica dos nitrocompostos.¹⁷

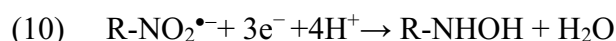
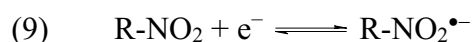
Os nitro-heterocíclicos possuem um mecanismo de redução voltamétrica complexo e bem conhecido, no qual o grupo nitro pode receber até seis elétrons, ocorrendo, assim, a completa redução para amina derivada correspondente. Em condições anaeróbicas ou em baixa pressão de oxigênio, o processo de redução destes compostos segue processo semelhante ao conhecido para o nitrobenzeno, no qual obtém-se os derivados nitroso, hidroxilamínico e a amina,^{26,28} como produtos, de acordo com a série de reações a seguir:



Em geral, esta redução é dependente do pH e o potencial medido destes registros é deslocado para valores mais negativos. Já em meio alcalino, ou também com baixa concentração de prótons em meio aprótico, ocorre a formação do nitro ânion radical, de acordo com o seguinte equilíbrio:^{17,26}



A desprotonação do nitro ânion radical é estável em pH fisiológico.²⁹ Em meio alcalino, o mecanismo envolve uma redução reversível do grupo nitro ao nitro ânion radical com participação de um elétron, sendo que, na sequência, o radical é reduzido ao derivado hidroxilamínico, conforme reações abaixo.^{17,26} O intermediário de reação representado pelo par reversível $\text{R-NO}_2/\text{R-NO}_2^{\bullet-}$ pode ser registrado voltametricamente.¹⁷



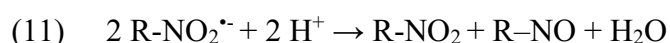
Dado o exposto, reforça-se ainda mais que estudos eletroquímicos podem ser relevantes para a compreensão dos ciclos redox envolvidos nos processos biológicos. Neste contexto, diversos trabalhos vêm sendo desenvolvidos sobre a geração e estabilização do nitro ânion radical por voltametria cíclica, enumerados na Tabela 2 abaixo.

Tabela 2. Estudos sobre a geração do nitro ânion radical a partir do Nitrofural por voltametria cíclica

Ano	Eletrodo de trabalho	Meio	v (V/s)	pH	Concentração (mmol/L)	Const. de velocidade: $k_2^* \cdot 10^{-2} \text{ (mol L}^{-1}\text{s}^{-1})$	Referência
1987	Mercúrio	DMF	0,02 a 0,4	0 a 14	0,124	-	30
1990	Mercúrio	Água e DMF	0,01 a 0,5	7,4 e 8,6	0,26, 0,06 e 8,3	-	31
1991	Mercúrio, Ouro, Platina ou ECV	Água e DMF ou CH_2Cl_2	0,01 a 0,5	7 a 12	0,2 e 10	7,5 a 12	26, 32
2003	Mercúrio	Etanol ou DMF e tampão BR ou DMF	0,1 a 10	3 a 12	5	3,3	33
2003	Microeletrodo de fibra de carbono	Aquoso	0,005 a 5	7,8	0,1	-	34
2005	Diamante dopado com Boro	Aquoso	0,1 a 1,0	2 a 12	0,1	-	35
2005	ECV	Água e DMF	0,01 a 2	2,32 a 12,1	1	-	36
2006	Diamante dopado com Boro	Aquoso	0,1	8	0,1	0,016	28
2013	ECV	Aquoso	0,02 a 1,0	2,0 a 12,0	0,5	56,8 a 160,74	17
2020	ECV modificado com nanotubos de carbono	Aquoso	0,1 a 1,0	2 a 10	0,1 e 0,5	0,42 a 0,94	37
2020	Microeletrodo de fibra de carbono	Líquidos iônicos	0,1 a 1,0	-	10, 15 e 20	0,533 a 16,8	38

Estudos anteriores mostraram que em meio prótico, a redução do nitrofural se torna mais difícil e, conseqüentemente a observância de sinal do seu nitro ânion radical não é possível de forma isolada, mesmo que alguns sinais possam ser relatados.³³ Porém, uma vez que esta solução apresente baixa concentração ou ausência de prótons, como ocorre em meio aprótico/não aquoso (DMF, DMSO, acetonitrila) ou em meio aquoso alcalino, a geração do

nitro ânion radical pode ser favorecida.³³ Neste sentido, o processo redox reversível correspondente ao par $R\text{-NO}_2 / R\text{-NO}_2^{\bullet-}$ e envolvendo um elétron, é registrado antes da formação do derivado hidroxilaminico.³⁸ Depois deste processo, uma reação química irreversível pode ocorrer após este processo de transferência de carga reversível, caracterizando um mecanismo EC, ou seja, uma reação química ocorre após a geração do radical nitro-ânion. Assim, a decomposição deste radical gerado é promovida através de uma reação de desproporcionamento em um meio prótico ou alcalino aquoso, formando $R\text{-NO}_2$ e $R\text{-NO}$ ^{38,39,40}, de acordo com a reação abaixo:



Ou ainda por meio de uma reação de dimerização em solventes apróticos ou em meios mistos ou não aquosos, determinando a estabilidade cinética do nitro ânion radical gerado eletroquimicamente. Como mostrado na Tabela 2 acima, a maioria dos estudos sobre o mecanismo de redução eletroquímica de nitroheterocíclicos é feita em meio aquoso.³⁸ De forma complementar, dados da literatura^{26,38,41,42} indicam a possibilidade de eletrogeração de um azo derivado a partir do radical formado na superfície do eletrodo. Neste caso, a formação do dímero é considerada, ainda que, em meio não-aquoso e em completa ausência de prótons ionizáveis em solução, exista a possibilidade de reação, no limite da camada de difusão, entre o radical formado na superfície do eletrodo e o nitrocomposto presente no seio na solução, na qual o nitro ânion radical consegue retirar um próton de outra molécula desse fármaco configurando-se numa reação conhecida como *father-son*.³⁸

As características do eletrodo, tanto seu material quanto o processo de tratamento realizado a sua superfície podem ter relação com a geração e estabilização deste nitro ânion radical, demonstrando ou não uma melhor sensibilidade, evidenciando sua geração e detecção deste radical em baixas velocidades de varredura.^{33,37,43,44} De forma análoga, proporcionados pela espécie eletroativa, fenômenos adsortivos também podem interferir na estabilidade do nitro radical aumentando seu tempo de meia-vida por dificultar ou mesmo suprimir a protonação do radical na camada de difusão.¹⁷

1.4 Técnicas eletroquímicas

Neste contexto, a ação biológica em moléculas baseada em processos de transferência de carga, como no caso destes compostos mencionados, pode ser uma propriedade físico-química de suma importância na descoberta de novas moléculas biologicamente ativas. Nesse âmbito, técnicas eletroquímicas apresentam-se como excelente alternativa para estudo de fármacos eletroativos.¹⁷ Destacadas também devido as suas inerentes vantagens de simplicidade, facilidade de miniaturização, alta sensibilidade e relativo baixo custo frente às demais técnicas analíticas,⁴⁵ estas técnicas vêm sendo aplicadas a fim de compreender melhor os mecanismos de ação destas moléculas bioativas ou na intenção de correlacionar o comportamento eletroquímico de compostos tripanomicidas e sua atividade biológica, especialmente em nitrocompostos,²⁶ uma vez que, conforme já discutido, o nitro ânion radical e o derivado hidroxilamínico, provenientes do processo de redução do grupo nitro, são aceitos como os principais responsáveis pela ação citotóxica dos nitrocompostos,¹⁷ logo, estudos eletroquímicos podem ser relevantes para a compreensão dos ciclos redox envolvidos nos processos biológicos.²⁹

De forma geral, a eletroquímica é o ramo da química que estuda a inter-relação elétrica e efeitos químicos, o que pode abranger desde o estudo de mudanças causadas pela passagem de uma corrente elétrica a compostos até a produção de energia elétrica por reações químicas, englobando uma grande matriz de diferentes fenômenos, como eletroforese, corrosão, sensores eletroanalíticos, baterias, células de combustível e etc.⁴⁶ A instrumentação eletroquímica geralmente consiste em um potenciostato, para impor o potencial sobre um eletrodo, ou um galvanostato, para controlar a corrente através da célula, em conjunto com um gerador de função, para produzir a perturbação desejada e um sistema de exibição e registro da medição e apresentação da corrente, do potencial e do tempo.⁴⁶

Desde as primeiras configurações experimentais até o presente momento, os sistemas eletroquímicos têm recebido substanciais contribuições com relação a avanços não só da química, mas, em especial, da eletrônica, como exemplo no uso de componentes miniaturizados, robustos, versáteis e com baixo custo, transformando sistemas inicialmente complexos em equipamentos portáteis, leves, de fácil uso em qualquer situação.⁴⁷ Neste âmbito, as técnicas voltamétricas se destacam para muitas aplicações em química analítica, como para controle de qualidade de produtos farmacêuticos ou alimentícios, estudos

ambientais, análise de combustíveis, entre outras aplicações, com relevantes vantagens baseadas principalmente na alta sensibilidade, baixo custo instrumental e operacional.⁴⁷

1.4.1 Voltametria cíclica

Inicialmente, as técnicas voltamétricas foram estudadas por meio de sistemas envolvendo eletrodos de mercúrio, aplicados ao estudo de processos envolvendo íons metálicos em soluções. Nestes sistemas, pretendia-se observar parâmetros qualitativos e quantitativos, permitindo suas aplicações na identificação, especiação e também quantificação de diferentes componentes em diversos meios.⁴⁷

Nesta conjuntura, a voltametria cíclica, reconhecida desde a década de 80 do século passado como um dos métodos eletroquímicos mais populares,⁴⁸ é a técnica mais frequentemente utilizada para adquirir informações qualitativas sobre os processos eletroquímicos. A eficiência desta técnica é resultante de sua característica de rapidamente fornecer informações termodinâmicas e cinéticas de processos redox, da cinética de reações heterogêneas de transferência de elétrons e sobre reações químicas acopladas a processos adsorptivos.⁴⁷

Na voltametria, a instrumentação eletroquímica está conectada a uma célula eletroquímica, normalmente uma célula de três eletrodos, sendo um deles o eletrodo de trabalho (constituído por um material inerte como carbono, platina ou ouro), um eletrodo auxiliar (comumente de platina, mas também pode ser de ouro, carbono vítreo e etc.) e, por fim, um eletrodo de referência (como de Ag/AgCl (KCl saturado)).^{46,47} Nestes sistemas, os eletrodos são conectados a um amplificador operacional, o qual atuará quando uma diferença de potencial entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência for aplicada, fazendo com que a resistência do eletrodo de referência aumente, ao passo que a do eletrodo auxiliar, diminua. Desta maneira, a corrente poderá passar entre o eletrodo de trabalho e o auxiliar, evitando que ocorram distúrbios, como uma eletrólise, no eletrodo de referência. Com isso, é possível manter o potencial desta referência constante durante as medidas.^{46,47}

Em um experimento voltamétrico, a aplicação do potencial inicia-se em um valor no qual nenhuma redução ocorre. Com a variação deste potencial para regiões mais negativas (catódica), a substância é reduzida em solução, gerando, desta forma, um pico de corrente proporcional à concentração deste composto. Quando o potencial já tiver atingido um valor em que nenhuma reação de redução ocorre, este potencial é varrido no sentido inverso até o

valor inicial. No caso de uma reação reversível, os produtos que foram gerados no sentido direto, e ainda se localizam próximos à superfície do eletrodo, serão oxidados, gerando um pico simétrico ao pico da redução.⁴⁷

A forma de aplicação do potencial na voltametria cíclica está representada na Figura 4 ³⁶, na qual o potencial é varrido linearmente, alternando-se de forma crescente ou decrescente frente à referência, em função do tempo no eletrodo de trabalho. Durante a varredura deste potencial, o potenciostato registra a corrente que é gerada como função do potencial aplicado. Simples ou múltiplos ciclos podem ser utilizados a depender da informação desejada. O material eletroativo deve ser transportado para a superfície do eletrodo por difusão, onde ocorrerá a reação de transferência de carga, mas alternativamente, esta reação também pode ocorrer a partir do estado adsorvido. Em alguns casos ainda podem ocorrer reações químicas acopladas antes ou depois dos processos eletroquímicos.⁴⁷

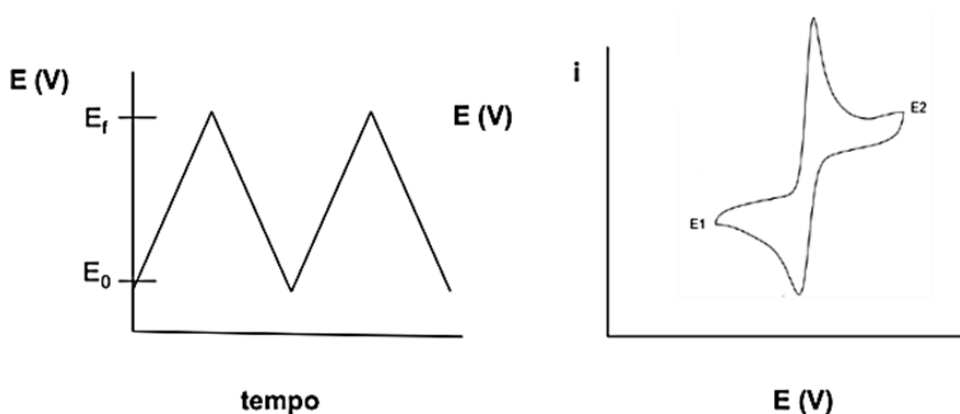


Figura 4. Aplicação do potencial para voltametria cíclica e exemplo de voltamograma genérico obtido para um sistema reversível.

É importante destacar que o tipo de voltamograma gerado depende do tipo de mecanismo redox que a substância em questão sofre no eletrodo, fazendo com que a voltametria cíclica seja uma valiosa ferramenta para estudos mecanísticos. Neste contexto, a voltametria cíclica representa uma das principais técnicas não espectrométricas empregadas para estes estudos devido à facilidade de aplicação e de interpretação dos resultados.⁴⁷

Para os nitroheterocíclicos, a partir de parâmetros, como velocidade de varredura, empregados na voltametria cíclica, é possível se obter informações relacionadas ao mecanismo de redução destes compostos, tais como a geração, estabilidade e reatividade dos radicais e intermediários formados, assim como determinações eletroanalíticas.^{17,29} Sob condições adequadas do meio, o elétron da redução de compostos nitroheterocíclicos produz

voltamogramas cíclicos muito bem resolvidos devido a existencia do par redox $R-NO_2 / R-NO_2^{\cdot-}$. Desta forma, usando de forma adequada a ampla versatilidade desta técnica voltamétrica, é possível estudar a geração do $R-NO_2^{\cdot-}$ e sua estabilidade em diferentes condições.²⁶

A geração deste radical depende fundamentalmente de requisitos energéticos para introduzir um elétron no grupo nitro e isto é refletido em seus potenciais de meia onda, $E_{1/2}$. Como já mencionado, o meio estudado também implica diretamente na estabilidade do $R-NO_2^{\cdot-}$ e reflete no decaimento da sua corrente de oxidação, I_{pa} , correspondente.²⁶ De fato, visando então monitorar o decaimento desta corrente mencionada, a estabilidade do nitro ânion radical é então melhor expressa através de um parâmetro de proporção, a razão entre as correntes de pico anódica e catódica, I_{pa}/I_{pc} .²⁶ Como exemplo, seguindo modelo descrito em literatura²⁶, uma proporção igual a um indicaria ausência de outras reações seguintes do $R-NO_2^{\cdot-}$; porém, uma razão menor que este número demonstra propensão a uma posterior reação, revelando assim a tendência de reação eletroquímica das espécies, ou seja, do nitro ânion radical de sofrer reações subsequentes.²⁶ Atribui-se a dependência do valor de I_{pa}/I_{pc} em função da concentração do composto para identificar reações de segunda ordem e distingui-las daquelas de primeira ordem. Comumente, o decaimento normal da maioria do $R-NO_2^{\cdot-}$ é de segunda ordem, através de reações de desproporcionamento ou dimerização, como mencionado.²⁶

Olmstead e colaboradores^{49,50} descreveram um modelo teórico através da voltametria cíclica para as reações de dimerização ou desproporcionamento realizadas eletroquimicamente.²⁶ Por meio deste modelo, utilizando-se os valores de I_{pa}/I_{pc} obtidos experimentalmente com diferentes velocidades de varredura em uma curva de trabalho, determina-se o parâmetro ω , o qual incorpora outros efeitos, como velocidade de varredura, concentração do composto e constante de velocidade (k_2).^{26,38} O gráfico de ω em função de τ , resultando em uma relação linear, é descrita por: $\omega = k_2 C \tau$, onde k_2 é a constante da velocidade para reação de segunda ordem ($\text{molL}^{-1}\text{s}^{-1}$), C é a concentração da substância (molL^{-1}) e τ , que é correspondente a $\tau = (E_{1/2} - E_s)/v$, sendo E_s correspondente ao potencial de início da varredura reversa da voltametria cíclica.³⁸ Dessa forma, a partir do valor de k_2 obtido através do coeficiente angular, é possível estimar o tempo de meia vida, $t_{1/2}$, sendo $t_{1/2} = 1/(k_2[R-NO_2^{\cdot-}])$ e assumindo como $[R-NO_2^{\cdot-}]$ a concentração da substância estudada (molL^{-1}).^{26,38}

2. OBJETIVOS

Conforme discutido até então, sendo a doença de Chagas uma doença negligenciada e conhecida a necessidade por novos fármacos mais eficazes e menos tóxicos, sabe-se que a quimioterapia para esta enfermidade ainda é um campo a ser explorado. Com foco nos compostos nitroheterocíclicos, que apresentam essa potencial atividade, e entendendo que a determinação dos parâmetros eletroquímicos para a redução destes compostos pode ser de grande importância para estudos de relação estrutura-atividade, neste contexto, este trabalho tem como objetivo o estudo de dois compostos inéditos que já tem sua atividade antichagásica constatada¹⁸, seguindo também linha de pesquisa do grupo.^{38,39}

Dessa forma, pretende-se utilizar a técnica eletroquímica de voltametria cíclica para caracterização e estudo do comportamento eletroquímico dos derivados nitrofurânico (NFBS) e sulfonil-hidrazona (NTBS) análogos do nitrofural (derivados **1** e **2**, respectivamente representados na Figura 3 e em destaque na Figura 5) em meio aquoso, utilizando ECV como eletrodo de trabalho. A partir deste estudo realizado, tem-se como foco a obtenção dos seguintes parâmetros como objetivos específicos:

- Avaliar o comportamento ciclo voltamétrico do NFBS e do NTBS frente aos parâmetros específicos que levem à caracterização do mecanismo de transferência de carga envolvido, como variação da velocidade de varredura e efeito do pH do meio;
- Estudar por voltametria cíclica o comportamento eletroquímico do NFBS e do NTBS em meio alcalino com vistas à geração do nitro radical aniônico;
- Avaliar o uso de grafite retirado de pilhas secas esgotadas como eletrodo de trabalho, visando observar o comportamento destes derivados e a viabilidade do estudo em um eletrodo diferente do ECV;
- Comparar e avaliar diferenças associadas ao comportamento voltamétrico registrado entre o NFBS e do NTBS.

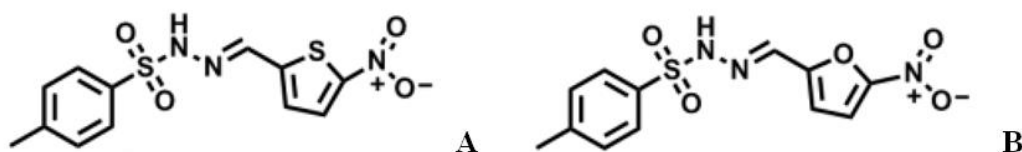


Figura 5. Fórmulas estruturais do (A) NTBS (4-metil-N-[(E)-(5-nitro-2-tienil) metilenoamino] benzenosulfonamida), e do (B) NFBS (4-metil-N-[(Z)-(5-nitro-2-furil) metilenoamino] benzenosulfonamida).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Medidas eletroquímicas e sistema de eletrodos

O comportamento eletroquímico dos derivados sulfonil-hidrazona (NTBS) e nitrofurânico (NFBS) foi estudado por meio da técnica da voltametria cíclica. As medidas voltamétricas foram realizadas em Potenciostato/Galvanostato Autolab PGSTAT302, Eco-Chimie, utilizando uma célula de vidro com capacidade para 25,0 mL. Todas as medidas foram efetuadas em atmosfera inerte por meio de borbulhamento de nitrogênio.

Os eletrodos de platina e Ag/AgCl, KCl_(sat) foram utilizados como eletrodo auxiliar e referência, respectivamente. Utilizou-se, como eletrodo de trabalho, majoritariamente, eletrodo de carbono vítreo (ECV), sendo este polido manualmente a cada medida, sob suspensão de diamante 1/4 μm sobre feltro metalográfico para polimento. Também se avaliou, frente a resultados com o eletrodo de carbono vítreo, a viabilidade do uso do eletrodo de grafite retirado de pilha seca exaurida.⁵¹ Este eletrodo foi construído no próprio laboratório, sendo uma das extremidades dos bastões de grafite foi conectado a um fio de cobre com o auxílio de grafite em pó para fazer o contato elétrico com o circuito externo. O conjunto foi colocado em ponteiros de plástico, e uma das extremidades foi fixada com Araldite® de cura normal, deixando exposto o grafite para o contato com o circuito externo. O eletrodo pode ser utilizado após 24 horas de repouso e pré-tratamento de limpeza de superfície por polimento manual.

3.2 Medidas de pH e efeitos do meio

Embora a formação do nitro radical ocorra em pH fisiológico ou valores superiores, o estudo eletroquímico foi conduzido em uma ampla faixa de pH, de modo a estudar quimicamente o mecanismo completo de redução do composto em estudo. Todas as medidas eletroquímicas foram feitas utilizando tampão Britton-Robinson, solução constituída de H₃PO₄, H₃CCOOH e H₃BO₃ (todos estes em concentração 0,4 mol/L) com volume apropriado de uma solução de NaOH (1 mol/L), com valores variáveis de pH (2 a 12), como eletrólito de suporte. O controle exato de pH foi efetuado por meio de eletrodo de vidro combinado com um eletrodo de referência externa de Ag/AgCl (KCl 3,0 M) conectado ao potenciômetro correspondente, em temperatura ambiente.

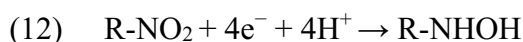
3.3 Reagentes e soluções

As soluções foram preparadas a partir de reagentes comerciais de grau analítico e com água desionizada. Foi preparada solução estoque dos dois derivados de forma idêntica com concentração de 0,01 mol/L para NTBS e para o NFBS, através de dissolução direta de quantidade apropriada de reagente ($MM = 324,2893 \text{ g/mol}$ e $MM = 308,2232 \text{ g/mol}$, respectivamente) em mistura (1:1) de acetonitrila e água ultrapura, sendo estocada em frascos âmbar e armazenados em geladeira. É importante ressaltar que o derivado estudado foi fornecido por meio da colaboração do Prof. Dr. Gustavo Trossini da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP, responsável e orientador da pesquisa envolvendo a síntese dos derivados sulfonil-hidrazonas análogo do nitrofural que constam na dissertação de mestrado de Fernando Gatti¹⁸, além de que todos os derivados citados nesta proposta já foram isolados, identificados, caracterizados e biologicamente testados contra doença de Chagas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Estudo inicial do comportamento voltamétrico dos derivados

Os primeiros estudos com o NTBS e o NFBS foram feitos em meio ácido, pH = 4, e com concentração de $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$, seguindo resultados e método baseados por estudos anteriores.^{17,36,43} Nos dois derivados ocorre a formação de um pico de redução (E_{cp1}) que podem ser observados na Figura 6, $E_{cp1} = -0,377 \text{ V}$ e $I_{cp1} = -6,27 \mu\text{A}$ para o NTBS (A) e $E_{cp1} = -0,355 \text{ V}$ e $I_{cp1} = -7,48 \mu\text{A}$ para o NFBS (B), irreversível, uma vez que não há registro de pico de oxidação no sentido reverso de potencial. Baseado no mecanismo já conhecido de redução de nitro-heterocíclicos em meio ácido,^{17,36,43} atribui-se a E_{cp1} a redução do grupo nitro ao seu derivado hidroxilamínico, em uma etapa, de acordo com a reação abaixo:



O outro pico de redução (E_{cp2}) observado, $E_{cp2} = -0,844 \text{ V}$ e $I_{cp2} = -2,12 \mu\text{A}$ para o NTBS e $E_{cp2} = -0,821 \text{ V}$ e $I_{cp2} = -2,36 \mu\text{A}$ para o NFBS, corresponde à formação da amina (R-NH_2) através da redução do derivado hidroxilamínico,⁵² em valor mais negativo de potencial. Este pico de redução, E_{cp2} , para o NFBS, mesmo que presente e atribuído, através de resultados anteriores, a geração de R-NH_2 como mencionado, é melhor observado nos voltamogramas da Figura 7 (B).

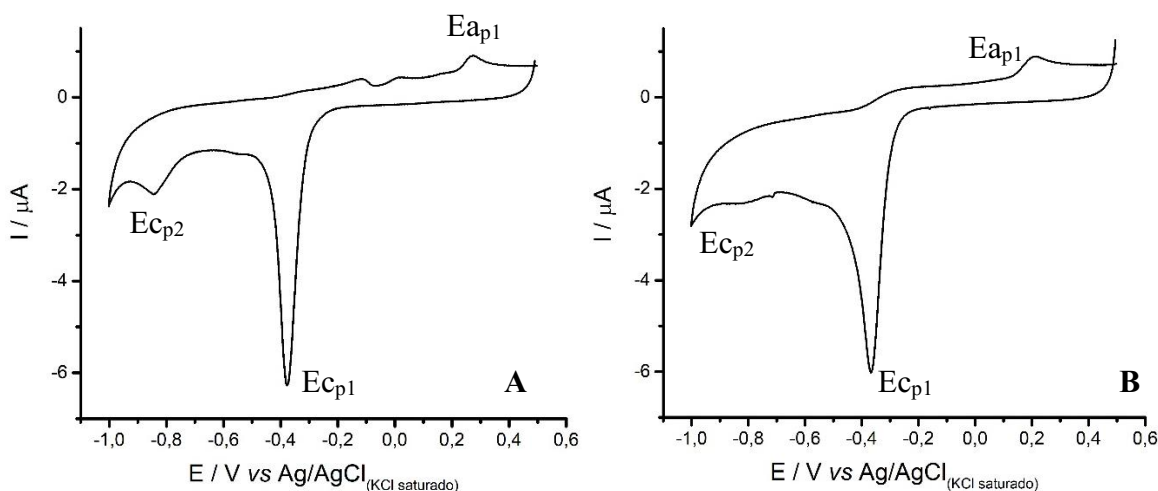
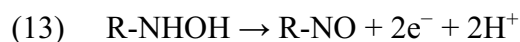


Figura 6. Voltamogramas cíclicos do (A) NTBS e (B) NFBS registrados em pH 4,0; [NTBS] = $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$, [NFBS] = $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$; $v = 0,1 \text{ Vs}^{-1}$; $E_{\text{inicial}} = 0,5 \text{ V}$, $E_{\text{final}} = -1,0 \text{ V}$.

Também é possível observar a formação de um pico anódico, E_{ap1} ($E_{ap1} = 0,274$ V, $I_{ap1} = 0,911$ μ A para o NTBS e $E_{ap1} = 0,206$ V, $I_{ap1} = 0,959$ μ A para o NFBS). Sendo que o E_{ap1} corresponde à oxidação da hidroxilamina para o derivado nitroso, também baseado em estudos anteriores^{17,36,43} e de acordo com a seguinte reação:



4.2 Estudo da influência da velocidade de varredura

Este estudo foi realizado em ambos os compostos com velocidades de varredura de $0,01$ Vs^{-1} a $0,9$ Vs^{-1} , tendo como resultado os voltamogramas mostrados na Figura 7 a seguir.

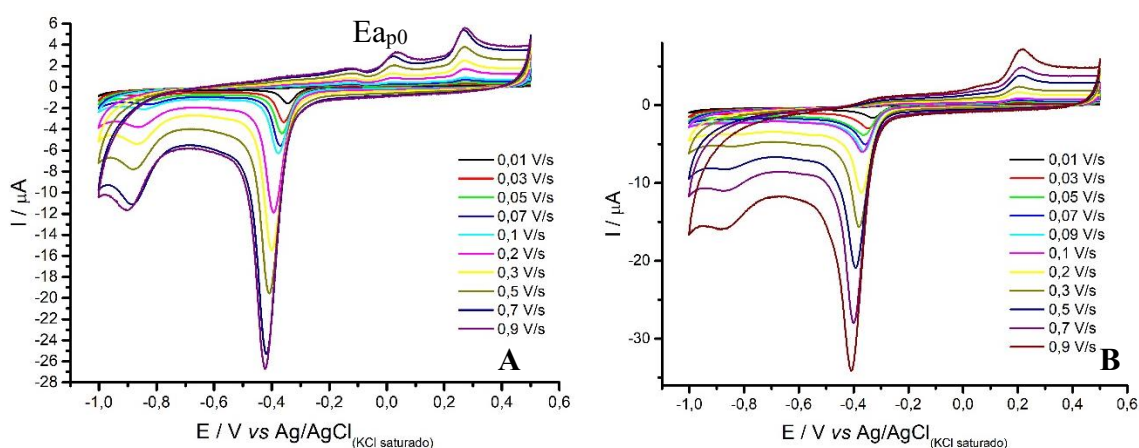


Figura 7. Voltamogramas cíclicos do (A) NTBS e (B) NFBS registrados em pH 4,0 com diferentes velocidades de varredura, $[NTBS] = 1,0 \times 10^{-4} molL^{-1}$ e $[NTBS] = 1,0 \times 10^{-4} molL^{-1}$; $E_{inicial} = 0,5$ V, $E_{final} = -1,0$ V.

Observa-se também, além dos picos descritos anteriormente, a formação de um outro pico de oxidação, E_{ap0} . O produto formado neste pico indicado ainda necessita de maiores estudos para sua elucidação, pois seu registro não foi observado nos estudos com compostos semelhantes e referenciados até então^{17,36,43} e não há registro anterior na literatura de sua formação.

A irreversibilidade voltamétrica da redução do NTBS e do NFBS é observada em toda a faixa de velocidade de varredura estudada. Correlacionando-se graficamente os valores de correntes de pico (I_p) e a raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$), como mostrado na

Figura 8, observa-se uma relação linear ($I_p = 2,42 \times 10^{-6} - 3,16 \times 10^{-5}v^{1/2}$ para o NTBS e $I_p = 4,48 \times 10^{-6} - 3,85 \times 10^{-5}v^{1/2}$ para o NFBS), indicando que o processo é controlado por difusão das espécies em solução para a superfície do eletrodo.¹⁷ É importante ressaltar que o eletrodo de carbono vítreo foi polido a cada medida.

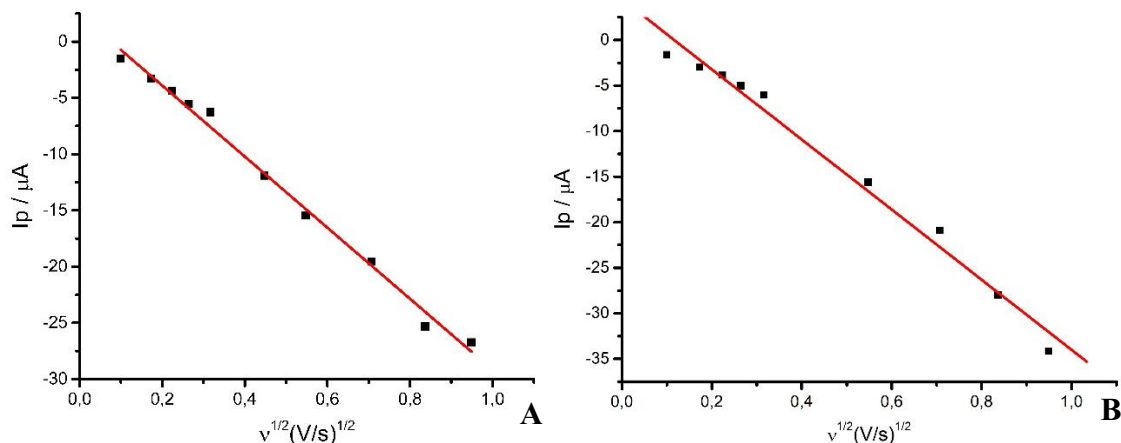


Figura 8. Gráfico de corrente de pico de E_{cp1} em função da raiz quadrada de velocidade de varredura do (A) NTBS e (B) NFBS. $[NTBS] = 1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ ($R = -0,99647$); $[NFBS] = 1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ ($R = -0,99229$), em pH 4,0.

Em procedimento registrado na literatura^{53,54}, utiliza-se a relação linear entre $\log I_p$ em função de $\log v$, na qual valores de inclinação menores do que o valor teórico 1 referem-se a processos eletródicos controlados por adsorção, ao passo que para a mesma relação linear, valores de coeficiente angular maiores que 0,5 implicam em transporte de massa difusional. Dessa maneira, utilizando-se dessa análise nos dados apresentados na Figura 7, são obtidas duas relações lineares, sendo $\log I_p = -4,51 + 0,649 \log v$ ($R = 0,99785$) para o NTBS e $\log I_p = -6,56 + 0,698 \log v$ ($R = 0,99641$) para o NFBS, em ambos os casos o valor obtido é próximo de 0,5, corroborando os resultados já previamente discutidos em que o processo é controlado predominantemente por difusão das espécies a superfície do eletrodo.

Pelo exposto, também fica evidente que os potenciais de pico são deslocados para valores mais negativos de potencial, confirmando a irreversibilidade do sistema. A partir destes dados, é possível estimar os valores de αn obtidos por meio da equação voltamétrica de irreversibilidade, equação 1 mostrada abaixo, na qual α é o coeficiente de transferência de carga e n é o número de elétrons.⁵⁵

$$\left| E_{cp} - E_{pc} \right| = \frac{48}{\alpha n} \quad (1)$$

Os valores obtidos são mostrados nas tabelas 3 e 4 a seguir:

Tabela 3. Resultados da voltametria cíclica do NTBS em pH 4

v (V/s)	E_{cpl} (V)	$E_p - E_p/2$	αn
0,01	-0,345	-0,029	1,66
0,03	-0,357	-0,031	1,55
0,05	-0,365	-0,034	1,41
0,07	-0,371	-0,033	1,45
0,1	-0,377	-0,035	1,37
0,2	-0,393	-0,036	1,33
0,3	-0,401	-0,039	1,23
0,5	-0,408	-0,040	1,20
0,7	-0,418	-0,041	1,17
0,9	-0,422	-0,042	1,14

Média = 1,35

Tabela 4. Resultados da voltametria cíclica do NFBS em pH 4

v (V/s)	E_{cpl} (V)	$E_p - E_p/2$	αn
0,01	-0,329	-0,033	1,45
0,03	-0,347	-0,036	1,33
0,05	-0,361	-0,038	1,26
0,07	-0,357	-0,035	1,37
0,1	-0,369	0,036	1,33
0,3	-0,379	-0,036	1,33
0,5	-0,393	-0,038	1,26
0,7	-0,401	-0,039	1,23
0,9	-0,401	-0,043	1,12

Média = 1,30

Arredondando os valores de αn estimados para o próximo valor inteiro possível, uma vez que este valor pode sinalizar um número de elétrons, os valores obtidos sugerem o envolvimento de dois elétrons na etapa determinante da reação, dessa maneira, atribui-se a formação do composto nitroso a etapa lenta do primeiro pico de redução, portanto, o potencial de redução reflete a transferência do primeiro ou do segundo elétron. O evidente decréscimo nos valores de αn indica que a irreversibilidade da redução do NTBS aumenta em velocidades de varreduras mais altas, o que pode ser explicado pelo fato de o potencial de aplicação ser mais rápido que a transferência de carga envolvida na etapa determinante da reação

eletródica. Comportamento semelhante também foi registrando anteriormente, para o nitrofural.^{17,36,43}

De modo complementar, os parâmetros de αn e k_0 , constante eletroquímica de estabilidade, foram calculados através de uma metodologia já conhecida^{56,57} e de acordo com a equação 2, mostrada abaixo:

$$E_p = E^\circ + \frac{RT}{\alpha n F} \ln \left(\frac{RT k_0}{\alpha n F} \right) - \frac{RT}{\alpha n F} \ln v \quad (2)$$

Na qual R é a constante universal dos gases (8,314 J K⁻¹mol⁻¹), T é a temperatura em Kelvin, F é a constante de Faraday (96485 C mol⁻¹), E_p é o potencial de pico (V), E° é o potencial formal e v é a velocidade de varredura em Vs⁻¹. O valor de E° é obtido através do gráfico entre E_p e v , onde E° é o intercepto da relação obtida, extrapolando-a para $\ln v = 0$. Os valores de E° obtidos foram -0,346 V e -0,337 V para o NTBS e o NFBS respectivamente.

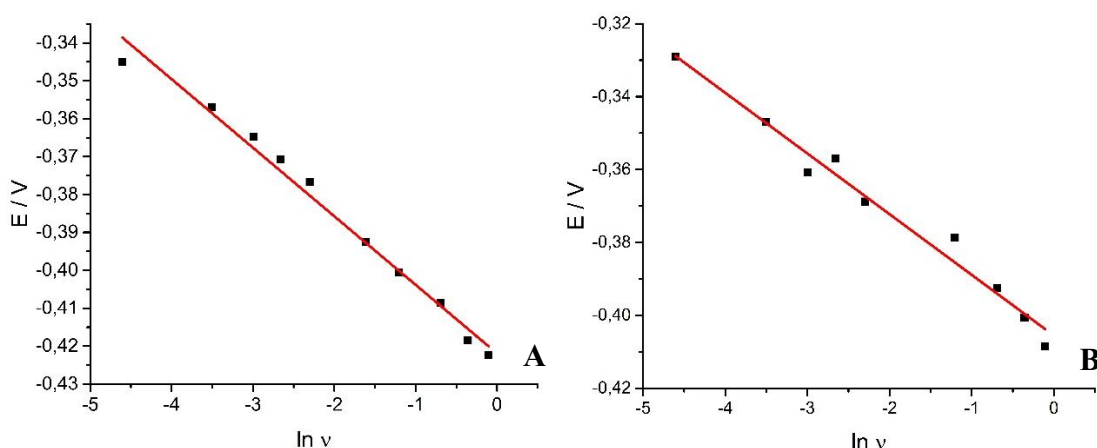


Figura 9. Gráfico de potencial de pico em função do logaritmo natural da velocidade de varredura com polimento do ECV do (A) NTBS e (B) NFBS. [NTBS] = 1,0 x 10⁻⁴ molL⁻¹ (R = -0,9931); [NFBS] = 1,0 x 10⁻⁴ molL⁻¹ (R = -0,9889).

Tabela 5. Valores calculados de αn e k_0 para o NTBS e NFBS

	NTBS	NFBS
αn	1,42	1,54
k_0 (s ⁻¹)	0,843	0,989

Desta maneira, por meio da equação 2 e dos gráficos de E_p em função de $\ln v$, Figura 9, nos quais $E_p = -0,422 - 0,0181 \ln v$ para o NTBS e $E_p = -0,405 - 0,0166 \ln v$ para o NFBS, os valores de αn e k_0 foram calculados, a partir do coeficiente angular e do coeficiente linear respectivamente, de acordo com a tabela 4. Os valores de αn calculados por esta metodologia^{56,57} se assemelham com a média dos valores obtidos anteriormente mostrados nas tabelas 2 e 3, corroborando os resultados anteriores.

4.3 Estudo da influência do pH

O estudo voltamétrico do NTBS e do NFBS também foi realizado em pH 2,0 a 12,0, como mostrado na Figura 10 a seguir.

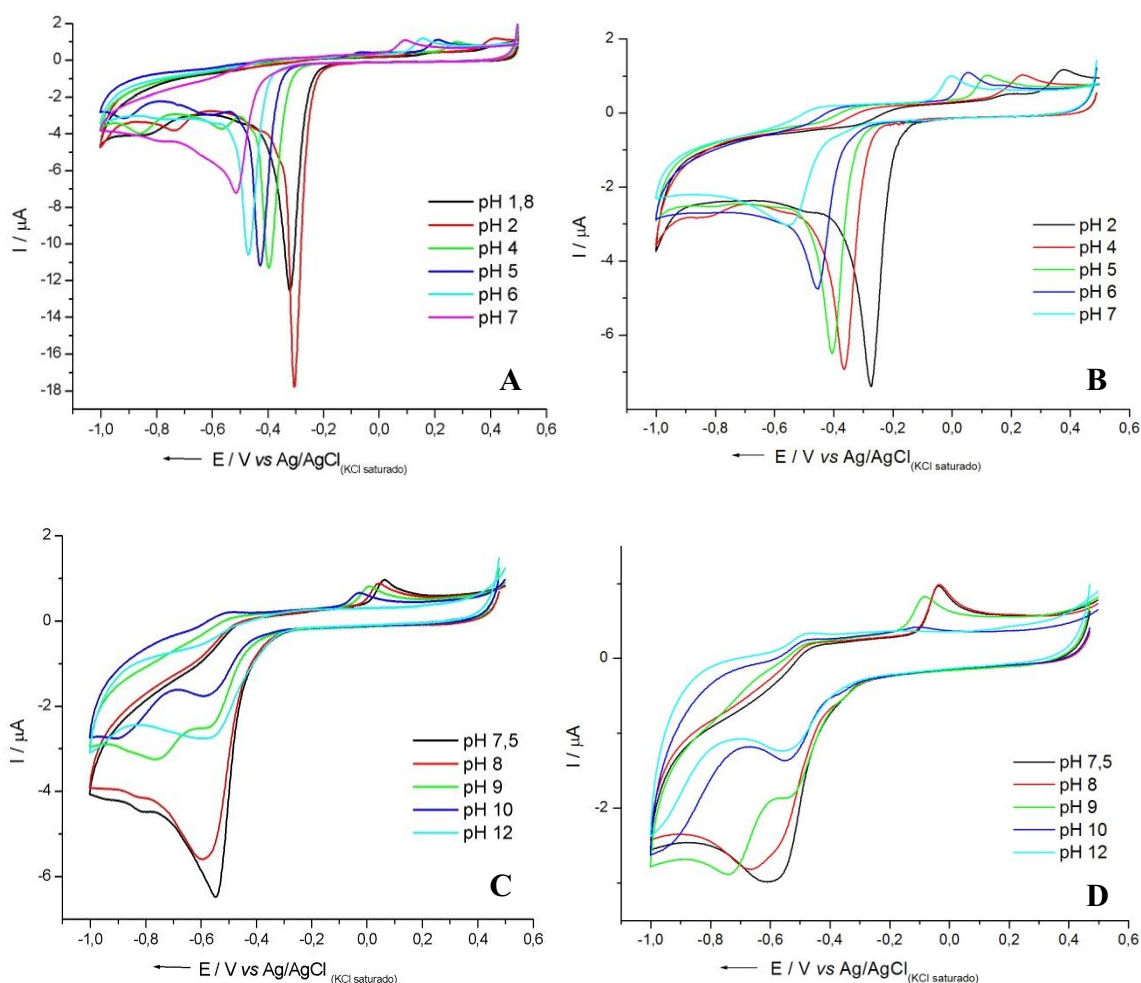


Figura 10. Voltamogramas cíclicos do (A e C) NTBS e (B e D) NFBS registrados em meio ácido, duas figuras acima, e meio alcalino, duas figuras abaixo; $[NTBS] = 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $[NFBS] = 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $E_{\text{inicial}} = 0,5 \text{ V}$, $E_{\text{final}} = -1,0 \text{ V}$; $v = 0,1 \text{ V s}^{-1}$.

Assim como observado nos resultados do estudo inicial do comportamento voltamétrico dos derivados, foi registrado um único pico de redução (E_{cp1}) irreversível, em meio ácido, o qual é correspondente à redução do grupo nitro ao seu derivado hidroxilamínico. Também em meio ácido, Figura 10 A e B, é possível observar que os valores de potencial de pico (E_{cp1}) são deslocados para valores mais negativos com o aumento do pH, indicando a existência de equilíbrio ácido-base acoplado ao processo de redução dos compostos em que há protonação antes de transferência de carga na redução dos compostos. Este deslocamento possibilita a construção do gráfico de E_{cp1} em função dos valores de pH, Figura 11, no qual verifica-se uma relação linear com equação da reta de $E_p = -0,21 - 0,045\text{pH}$ para o NTBS e $E_p = -0,155 - 0,053\text{pH}$ para o NFBS, em meio ácido.

Já em meio alcalino, nota-se uma drástica redução nos valores das correntes de pico e também uma nítida mudança no comportamento observado até então para o meio ácido, Figura 10 C e D. Todavia, pode-se observar que a partir do pH 9 o pico catódico originalmente registrado em meio mais ácido, E_{cp1} , desdobra-se em dois processos, também demonstrado na Figura 11, dos quais o primeiro pico, ao redor de $-0,55\text{ V}$, pode estar relacionado a formação do nitro radical aniônico, para ambos os compostos.^{17,36,43}

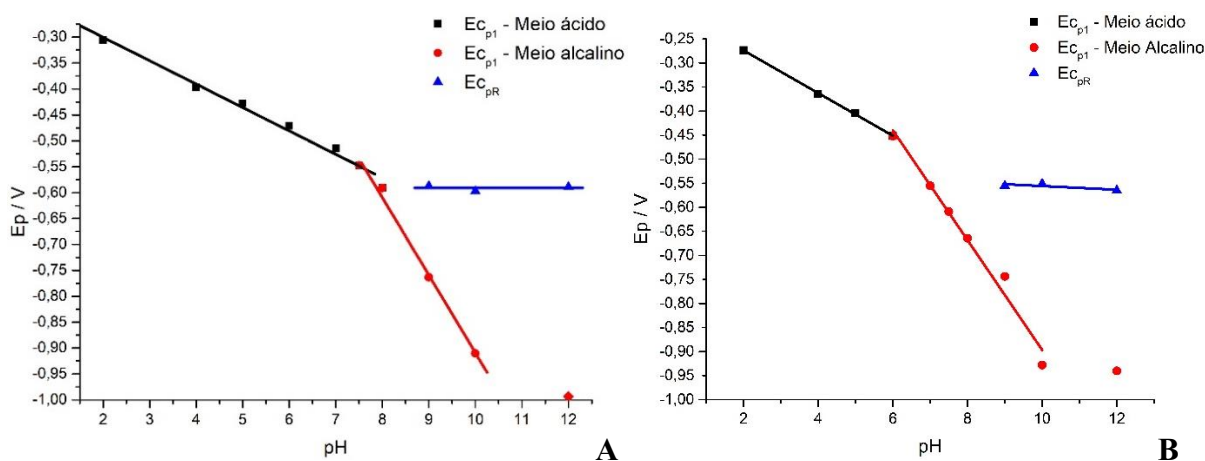


Figura 11. Valores dos potenciais de pico em função do pH, (A) NTBS e (B) NFBS; $[\text{NTBS}] = 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{NFBS}] = 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

Adicionalmente, com estes dados, observa-se também que em pH 7,5, o pH analisado mais próximo do pH biológico de 7,4, o comportamento de ambos os derivados ainda mantém o padrão mencionado dos compostos em meio ácido, com a formação do derivado

hidroxilamínico em E_{cp1} e sua consequente redução a amina em E_{cp2} , porém, começa a se assemelhar com observado sobre o meio alcalino.

De fato, avaliando-se a possibilidade de formação do nitro ânion radical, registraram-se os voltamogramas abaixo em meio alcalino, Figura 12, onde observa-se o registro isolado da formação de um par reversível, no qual nestas condições e baseando-se em resultados anteriores,^{17,36,43} indicam fortemente a formação do nitro radical, que pode ser representado por $R-NO_2^- / R-NO_2^{\bullet-}$. Observa-se que com aumento da velocidade de varredura, não há um deslocamento significativo dos valores de potencial de picos de redução, E_{cpR} , nem dos valores de potencial de pico de oxidação, E_{apR} , indicando a reversibilidade do sistema. É importante evidenciar que a redução voltamétrica do grupo nitro ocorre com o envolvimento de um elétron (E_{cpR}) formando o nitro radical aniônico e a consequente redução deste radical, leva ao derivado hidroxilamínico (E_{cp1}), de acordo com as reações 9 e 10.

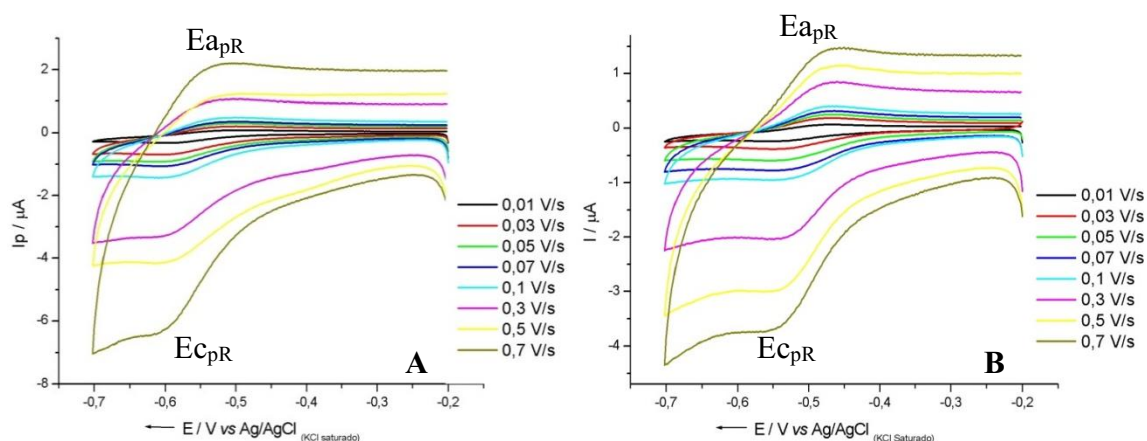


Figura 12. Voltamogramas cíclicos do (A) NTBS e (B) NFBS em pH 12,0 a diferentes velocidades de varredura; $[NTBS] = 1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$; $[NFBS] = 1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$; $v = 0,1 \text{ Vs}^{-1}$; $E_{inicial} = -0,2 \text{ V}$; $E_{final} = -0,7 \text{ V}$.

4.4 Análise dos compostos sem grupo nitro

Visando saber se ocorrem reações eletroquímicas em outra parte da molécula, que não relacionadas o grupo nitro, analisou-se tanto NTBS quanto o NFBS sem a presença deste grupo, com suas respectivas estruturas mostradas abaixo na Figura 13.

Estes compostos foram tratados de forma idêntica aos derivados com grupo nitro, assim, as medidas voltamétricas foram feitas com mesma concentração utilizada no NTBS e

NFBS, $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$, com os mesmos eletrodos, solventes e soluções iguais aos usados nos compostos estudados. Dessa maneira, obtiveram-se os voltamogramas mostrados na Figura 14 e, como esperado, observa-se que não há registro de nenhum pico de oxidação nem de redução na faixa de potencial estudado, para ambos os compostos, indicando que os outros grupos funcionais presentes nas moléculas não reagem eletroquimicamente.



Figura 13. Fórmula estrutural do (A) NTBS sem grupo nitro (4-metil-N-[(Z)-2-tienil) metilenoamino] benzenosulfonamida e do (B) NFBS sem grupo nitro (4-metil-N-[(Z)-2-furil)metilenoamino] benzenosulfonamida).

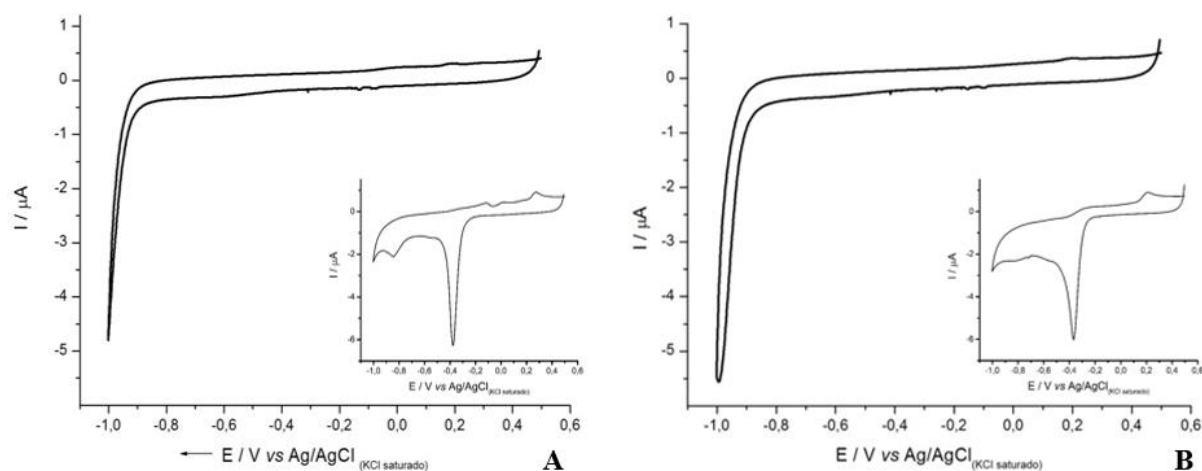


Figura 14. Em destaque, voltamogramas cíclicos do (A) NTBS sem nitro e (B) NFBS sem nitro registrados em pH 4,0; [NTBS sem grupo nitro] = $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$; [NFBS sem grupo nitro] = $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$; $v = 0,1 \text{ Vs}^{-1}$; $E_{\text{inicial}} = 0,5 \text{ V}$, $E_{\text{final}} = -1,0 \text{ V}$. Voltamogramas cíclicos em escala menor mostrados anteriormente na Figura 6, (A) NTBS e (B) NFBS registrados em pH 4,0; [NTBS] = $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$, [NFBS] = $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$; $v = 0,1 \text{ Vs}^{-1}$; $E_{\text{inicial}} = 0,5 \text{ V}$, $E_{\text{final}} = -1,0 \text{ V}$.

4.5 Avaliação do uso de eletrodo de grafite

Os compostos também foram reduzidos voltametricamente utilizando-se eletrodo de grafite como eletrodo de trabalho em tampão Britton-Robinson pH 4,0 e com tratamento idêntico dos compostos analisados frente ao eletrodo de carbono vítreo. Os voltamogramas obtidos são mostrados abaixo, Figura 15. Estes resultados alterando-se o eletrodo de trabalho para o eletrodo de grafite mostraram comportamento semelhante ao comportamento descrito acima tendo ECV como eletrodo de trabalho, tanto para o NTBS e para o NFBS, registrando-se os mesmos picos de redução e oxidação discutidos até então. Os valores de potencial registrados foram: $E_{cp1} = -0,357$ V, $E_{cp2} = 0,805$ V, $E_{ap1} = 0,0418$ V, $E_{ap2} = 0,288$ V para o NTBS e $E_{cp1} = -0,357$ V, $E_{cp2} = 0,805$ V, $E_{ap1} = 0,0418$ V, $E_{ap2} = 0,288$ V para o NFBS. Com estes resultados, nota-se a possibilidade do desenvolvimento destes estudos eletroquímicos com compostos nitro-heterocíclicos também com o eletrodo de grafite de pilha seca exaurida.

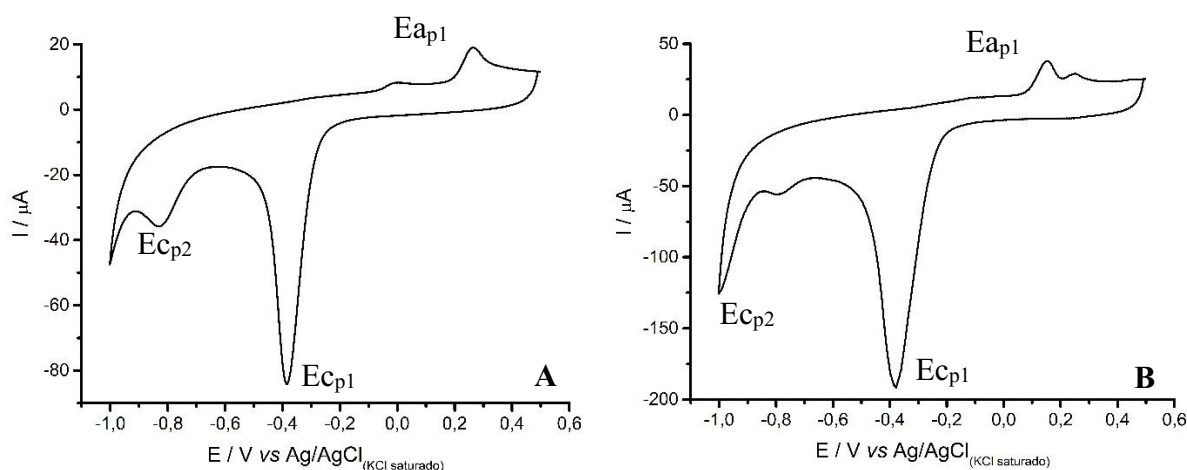


Figura 15. Voltamogramas cíclicos do NTBS (A) e NFBS (B) registrados em pH 4,0; [NTBS] = $1,0 \times 10^{-4}$ molL⁻¹; [NFBS] = $1,0 \times 10^{-4}$ molL⁻¹; $\nu = 0,1$ Vs⁻¹; $E_{inicial} = 0,5$ V, $E_{final} = -1,0$ V; com eletrodo de grafite.

5. CONCLUSÃO

- Tanto o NTBS quanto o NFBS registraram comportamento voltamétrico característico de compostos nitro-heterocíclicos, apresentando em meio ácido um único pico de redução irreversível, correspondente à formação do derivado hidroxilamínico;
- Observou-se que o mecanismo na redução dos compostos é um processo controlado por difusão a partir dos dados obtidos no gráfico de I_p em função da raiz quadrada da velocidade de varredura, as relações entre $\log I_p$ e $\log v$ corroboraram este resultado;
- Os valores de αn obtidos sugeriram o envolvimento de dois elétrons na etapa determinante da reação, atribuindo-se a formação do composto nitroso a etapa lenta do primeiro pico de redução, assim o potencial de redução reflete a transferência do primeiro ou do segundo elétron, para ambos os compostos. O decréscimo nos valores de αn indicou que o potencial de aplicação pode ser mais rápido que a transferência de carga envolvida na etapa determinante da reação eletródica;
- Nos dois compostos, em meio ácido, foi registrado um único pico de redução (E_{cp1}) irreversível, o qual é correspondente à redução do grupo nitro ao seu derivado hidroxilamínico. Também é observado que os valores de potencial de pico (E_{cp1}) são deslocados para valores mais negativos com o aumento do pH em meio ácido, indicando participação de íons hidrônio (H^+) em etapa anterior ao mecanismo de transferência de carga na redução do NTBS e do NFBS;
- Em meio alcalino, a redução se mostrou independente do pH, para os compostos, contudo, foi possível observar que a partir do pH 9 o pico catódico original registrado em meio mais ácido desdobra-se em dois processos, dos quais o primeiro pico é atribuído à formação do nitro ânion radical. Dessa forma, registrou-se a existência da formação do nitro ânion radical para o NTBS e para o NFBS, através do intermediário de reação representado pelo par reversível $R-NO_2 / R-NO_2^{\bullet-}$ e que com aumento da velocidade de varredura, não há um deslocamento significativo dos valores de potencial de picos de redução nem de oxidação, indicando a reversibilidade do sistema;
- Nas análises dos derivados sem o grupo nitro não se observou registro de pico de oxidação nem de redução, comprovando que os outros grupos funcionais das duas moléculas não reagem eletroquimicamente;

- O uso do grafite como eletrodo de trabalho não apresentou qualquer diferença do comportamento voltamétrico do NTBS e do NFBS quando comparado aos resultados obtidos com o eletrodo de carbono vítreo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ WORLD HEALTH ORGANIZATION, disponível em: <[https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis))>, acesso em 27 de novembro de 2020.
- ² DRUGS FOR NEGLECTED DISEASES INICIATIVE, DNDi, disponível em: <<http://www.dndial.org/pt/doencas-negligenciadas/doenca-de-chagas.html>>, acesso em 27 de novembro de 2020.
- ³ MINISTÉRIO DA SAÚDE, Saúde de A a Z, Doença de Chagas; disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z-1/d/doenca-de-chagas#:~:text=%C3%89%20considerado%20caso%20suspeito%20de,Exantema.>>, acesso em 27 de novembro de 2020.
- ⁴ PEREIRA, K. S.; SCHMIDT, F. L.; BARBOSA, R. L.; GUARALDO, A. M. A.; FRANCO, R.M.B.; DIAS, V.L.; PASSOS, L.A.C.; Transmission of Chagas disease (American Trypanosomiasis) by food; *Advances in Food and Nutrition Research*; v. 59; p. 63-85, 2010.
- ⁵ PASSOS, L. A. C.; GUARALDO, A. M. A.; BARBOSA, R. L.; DIAS, V. L.; PEREIRA, K.S.; SCHIMDT, F.L.; FRANCO, R.M.B.; ALVES, D.P.; Sobrevivência e infectividade do *Trypanosoma cruzi* na polpa de açaí: estudo *in vitro* e *in vivo*; *Epidemiologia e serviços da saúde*; v. 21; n. 2; p. 223-232, 2012.
- ⁶ CALVO-MENDÉZ, M. L.; NOGUEDA-TORRES, B.; ALEJANDRE-AGUILAR, R.; CORTÉS-JIMÉNEZ, M.; Infección experimental com *Trypanosoma cruzi* através de água y alimentos contaminados; *Revista Latino-Americana de Microbiología*; v. 36; p. 67-69; 1994.
- ⁷ AÑEZ, N.; CRISANTE, G.; Supervivencia de formas de cultivo de *trypanosoma cruzi* en alimentos experimentalmente contaminados; *Boletín de Marariología y Salud Ambiental*; v. 48; p. 91-94; 2008.
- ⁸ SANCHEZ-SANCHO, F.; CAMPILLO, N.; PAEZ, J.; Chagas disease: progress and new perspectives; *Current Medicinal Chemistry*; v. 17(5); p. 423–452; 2010.
- ⁹ MAYA, J. D.; BOLLO, S.; NUÑEZ-VERGARA, L. J.; SQUELLA, J. A.; MORELLO, Y. R. A.; PÉRIÉ, J.; CHAUVIÈRE, G.; *Trypanosoma cruzi*: effect and mode of action of nitroimidazole and nitrofurán derivatives; *Biochemical pharmacology*; v. 65, p. 999–1006, 2003.
- ¹⁰ NJOGU, P.M.; CHIBALE, K.; Recent Developments in Rationally Designed Multitarget Antiprotozoan Agents; *Current Medicinal Chemistry*; v. 20; p. 1715-1742, 2013.
- ¹¹ TROUILLER, P.; OLLIARO, P.; TORREELE, E.; ORBINSKI, J.; LAING, R.; FORD, N.; Drug development for neglected diseases: a deficient market and a public-health policy failure; *Lancet*; v. 359; p. 2188-2194, 2002.
- ¹² COURA, J.R.; BORGES-PEREIRA, J.; Chagas disease. What is known and what should be improved: a systemic review, *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 45, n. 3, p. 286-296, 2012.
- ¹³ GIAROLLA J, FERREIRA EI; Design for neglected disease in Brazil; *Medicinal Chemistry*; v. 15; p.220–242; 2015.

-
- ¹⁴ BLUMENSTIEL, K.; SCHÖNECK, R.; YARDLEY, V.; CROFT, S.; KRAUTH-SIEGEL, R. L.; Nitrofuran drugs as common subversive substrates of *Trypanosoma cruzi* lipamide dehydrogenase and trypanothione reductase; *Biochemical Pharmacology*, v. 58, n.11, p. 1791-1799, 1999.
- ¹⁵ CHUNG, M.C.; BOSQUESI, P.L.; DOS SANTOS, J.L., A prodrug approach to improve the physico-chemical properties and decrease the genotoxicity of nitro compounds. *Current Pharmaceutical Design*, v. 17, p. 3515-3526, 2011.
- ¹⁶ LEMKE, T.L.; WILLIAMS, D.A.; *Foye's Principles of medicinal chemistry*; Lippincott Williams & Wilkins, 2008.
- ¹⁷ BRITO, C.L.; TROSSINI G.H.G.; FERREIRA, E.I.F.; LA SCALEA, M. A.; Nitrofurazone and its nitroheterocyclic analogues: a study of the electrochemical behavior in aqueous médium. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 24, n. 12, p.1964-1973, 2013.
- ¹⁸ GATTI, F.M.; Síntese e avaliação biológica de sulfonil-hidrazonas análogos do nitrofural como candidatos a antichagásico; Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas-USP, 2015.
- ¹⁹ SILVA, F.T.; FRANCO, C.H.; FAVARO, D.C.; FREITAS, L.H.; MORAES, C.B.; FERREIRA, E.I.; Design, synthesis and antitrypanosomal activity of some nitrofurazone 1,2,4-triazolic bioisosteric analogues; *European Journal of Medicinal Chemistry*; v. 121; p. 553-560, 2016.
- ²⁰ SCARIM; C. B.; CHIN, C. M.; Nitroheterocyclic derivatives: privileged scaffold for drug development against Chagas disease; *Medicinal Chemistry Research*; v. 28; p. 2099–2108; 2019.
- ²¹ OLMO; F.; GÓMEZ-CONTRERAS, F.; NAVARRO, P.; MARÍN, C.; YUNTA, M.J.R.; CANO, C.; CAMPAYO, L.; MARTÍN-OLIVA, D.; ROSALES, M. J.; SÁNCHEZ-MORENO, M.; Synthesis and evaluation of *in vitro* and *in vivo* trypanocidal properties of a new imidazolecontaining nitrophthalazine derivative; *Eur J Med Chem*; v. 106; p.106–119; 2015.
- ²² ALMEIDA, T.C.; RIBEIRO, L. H. G.; DOS SANTOS, L. B. F.; ; SILVA, C. M.; BRANQUINHO, R. T.; LANA, M.; GADELHA, F. R.; FÁTIMA, A.; Synthesis, *in vitro* and *in vivo* anti-*Trypanosoma cruzi* and toxicological activities of nitroaromatic Schiff bases; *Biomedicine and Pharmacotherapy*; v. 108; p.1703–1711; 2018.
- ²³ GOMES, P. A. T. M.; OLIVEIRA, A.R.; DE OLIVEIRA CARDOSO, M.V.; SANTIAGO, E. F.; BARBOSA, M. O.; SIQUEIRA, L. R. P.; MOREIRA, D. R. M.; BASTOS, T. M. B.; BRAYNER, F. A.; SOARES, M. B. P.; MENDES, A. P. O.; CASTRO, M. C. A. B.; PEREIRA, V. R. A.; LEITE, A. C. L.; Phthalimido-thiazoles as building blocks and their effects on the growth and morphology of *Trypanosoma cruzi*; *European Journal of Medicinal Chemistry*; v. 111; p. 46–57; 2016.
- ²⁴ SILVA, F.T.; FRANCO, C.H.; FAVARO, D.C.; FREITAS-JÚNIOR, L. H.; MORAES, C. B.; FERREIRA, E. I.; Design, synthesis and antitrypanosomal activity of some nitrofurazone 1,2,4-triazolic bioisosteric analogues; *European Journal of Medicinal*; v. 121; p. 553–560; 2016.
- ²⁵ ARIAS, D. G.; HERRERA, F.E.; GARAY, A.S.; RODRIGUES, D.; FORASTIERI, P.S.; LUNA, L. E.; BÜRG, M. D. L. M.; PIETRO, C.; IGLESIAS, A. A.; CRAVERO, R. M.;

-
- GUERRERO, S. A.; Rational design of nitrofurazone derivatives: Synthesis and valuation as inhibitors of *Trypanosoma cruzi* trypanothione reductase; *European Journal of Medicinal*; v. 125; p.1088–1097; 2017.
- ²⁶ SQUELLA, J.A.; BOLLO, S.; NUÑEZ-VERGARA, L.J., Recent Developments in the Electrochemistry of Some Nitro Compounds of Biological Significance; *Current Organic Chemistry*, v. 9, p. 565-581, 2005.
- ²⁷ NI, Y.; WANG, P.; KOKOT, S.; Voltammetric investigation of DNA damage induced by nitrofurazone and short-lived nitro-radicals with the use of an electrochemical DNA biosensor; *Biosensors & Bioelectronics*; v. 38; p. 245-251, 2012.
- ²⁸ JULIÃO, M.S.D.; FERREIRA, E.I.; FERREIRA, N.G.; SERRANO, S.H.P.; Voltammetric detection of the interactions between RNO₂ circle- and electron acceptors in aqueous medium at highly boron doped diamond electrode (HBDDE); *Electrochimica Acta*; v. 51; p. 5080-5086; 2006.
- ²⁹ WARDMAN, P.; Some reactions and properties of Nitro Radical-Anions Important in Biology and Medicine. *Environmental Health Perspectives*, v. 64, p. 309-, 1985.
- ³⁰ MORALES, A.; RICHTER, P.; TORAL, M. I.; Voltammetric Behaviour of Nitrofurazone, Furazolidone and Other Nitro Derivatives of Biological Importance; *Analyst*; p. 965; v. 112; 1987.
- ³¹ TOCHER, J. H.; EDWARDS, D.I.; Electrochemical characteristics of nitroheterocyclic compounds of biological interest. V. Measurement and comparison of nitro radical lifetimes; *International Journal of Radiation Biology*, p. 45-53; v. 45; 1990.
- ³² SYMONS, T.; TOCHER, J. H.; TOCHER, D. A.; EDWARDS, D. I.; Electrochemical studies of Nitroheterocyclic compounds of Biological interest. Vii. Effect of Electrode material; *Free Radical Research Communications*; v. 14; n. 1; p. 33-40.
- ³³ BOLLO, S.; NUÑEZ-VERGARA, L. J.; MARTINEZ, C.; CHAUVIERE, G.; PÉRIÉ, J.; SQUELLA, J. A.; Voltammetric Study of Nitro Radical Anion Generated from Some Nitrofurazone Compounds of Pharmacological Significance; *Electroanalysis*, p.15;n. 1;2003.
- ³⁴ GUZMAN, A.; AGUI, L.; PEDRERO, M.; YANEZ-SEDENO, P.; PINGARRÓN, J. M.; Voltammetric Determination of Antibacterial Nitro-Compounds at Activated Carbon Fibre Microelectrodes; *Electroanalysis*; n. 21; p. 16; 2004.
- ³⁵ JULIÃO, M. S. D.; ALMEIDA, E. C.; LA-SCALEA, M. A.; FERREIRA, N. G.; COMPTON, R. G.; SERRANO, S. H. P.; Voltammetric Behavior of nitrofurazone at highly boron doped diamond electrode; *Electroanalysis*; v. 17; p. 269-274, 2005.
- ³⁶ LA-SCALEA, M. A.; MENEZES, C. M. S.; JULIÃO, M. S. S.; CHUNG, M. C.; SERRANO, S. H. P.; FERREIRA, E. I.; Voltammetric behavior of nitrofurazone and its hydroxymethylprodrug with potential anti-chagas activity; *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 16. p. 744-782, 2005.
- ³⁷ BRITO, C. L.; FERREIRA, E. I.; LA SCALEA; M. A.; Multi-walled carbon nanotube functionalization and the dispersing agents study applied for the glassy carbon electrode

modification and voltammetric reduction of nitrofurazone; *Journal of Solid State Electrochemistry*; v. 24; p. 1969-1980; 2020.

³⁸ CHIAVASSA, L. D.; CAMILO, F. F.; LA-SCALEA, M. A.; Voltammetric Generation and Kinetic Stability of Nitro Anion Radical from Nitrofurazone in Ionic Liquids; *Journal of the Brazilian Chemical Society*; v. 00; n. 00; p. 1-11; 2020.

³⁹ CHIAVASSA, L. D.; LA-SCALEA, M. A.; Square wave voltammetry of nitrofurans in aqueous media using a carbon fiber microelectrode; *Journal of Solid State Electrochemistry*; v. 22; p. 1395–1402; 2018.

⁴⁰ LIMA, T. S.; ALMEIDA, M. O.; LA-SCALEA, M. A.; HONORIO, K. M.; SANTOS, M. C.; CODOGNOTO, L.; Diamond electrodes applied to the voltammetric generation of nitro-anion radicals from methyl parathion in aqueous media; *Diamond & Related Materials*; n.110; v. 108112; 2020.

⁴¹ KANG, C.; LEE, J.; SILVESTER, D. S.; Electroreduction of 2,4,6-Trinitrotoluene in Room Temperature Ionic Liquids: Evidence of an EC₂ Mechanism; *The Journal of Physical Chemistry C*; v. 120; p.10997; 2016.

⁴² LEE, J.; HAY, C. E.; SILVESTER, D. S.; Electrochemical Reduction of 2,4-Dinitrotoluene in Room Temperature Ionic Liquids: A Mechanistic Investigation; *Australian Journal of Chemistry*; v. 71; n. 10; p. 818-825.

⁴³ LA-SCALEA, M.A.; TROSSINI, G.H.G.; MENEZES, C.M.S.; CHUNG, M.C.; FERREIRA, E. I.; Electrochemical Reduction Using Glassy Carbon Electrode in Aqueous Medium of a Potential Anti-Chagas Drug: NFOH; *Journal of Electrochemical Society*, v. 156, n.7, p. F93-F97, 2009.

⁴⁴ MANDAL, P.C.; Reactions of the nitro radical anion of metronidazole in aqueous and mixed solvent: a cyclic voltammetric study; *Journal of Electroanalytical Chemistry*, v. 570, p. 55-61, 2004.

⁴⁵ AMARE, M.; NIKODIMOS, Y.; Electrochemical Determination of Metronidazole in Tablet Samples Using Carbon Paste Electrode, *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, v. 2016, ID 3612943.

⁴⁶ BARD AJ, FAULKNER LF. Electrochemical Methods, Fundamentals and Applications, 2nd ed, Wiley, New Work, 2001.

⁴⁷ PACHECO, W. F.; SEMAAN, F.S.; ALMEIDA, V. G. R.; RITTA, A. G. S. L.; AUCÉLIO, O.R.Q.; Voltametrias: Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos; *Revista Virtual de Química*; v. 5; p. 516-537; 2013

⁴⁸ FONSECA, I.; PROENCA, L.; CAPELO, S.; A voltametria cíclica e de varrimento linear unidirecional: suas potencialidades na caracterização de processos de corrosão; *Corros. Prot. Mater., Lisboa*, v. 34, n. 1, p. 12-21, 2015.

⁴⁹ OLMSTEAD, M. L.; NICHOLSON, R. S.; Cyclic Voltammetry Theory for the Disproportionation reaction and Spherical Diffusion; *Analytical Chemistry*; v. 41; p. 862–864; 1969.

-
- ⁵⁰ OLMSTEAD, M. L.; HAMILTON, R. G.; NICHOLSON, R. S.; Theory of cyclic voltammetry for a dimerization reaction initiated electrochemically; *Analytical Chemistry*; v. 36; p. 706; 1984.
- ⁵¹ BAIO, J.A.F.; RAMOS, L.A.; CAVALHEIRO, E.T.G.; Construction of a Graphite Electrode Removed from Common Batteries: Didactic Applications; *Química Nova*; v. 37; p. 1078-1084, 2014.
- ⁵² BARD, A.J.; LUND, H.; Encyclopedia of Electrochemistry of the Elements, v. 13, M. Dekker: New York, 1979.
- ⁵³ Biçer, E., Arat, C.; A Voltammetric Study on the Aqueous Electrochemistry of Acid Red 1 (Azophloxine); *Croatica Chemica Acta*, v. 32; p. 583 – 593, 2008.
- ⁵⁴ Gosser, D. K. JR.; Cyclic Voltammetry behavior of nitrofurazone at highly boron doped diamond electrode; *Electroanalysis*, v. 17, n. 3; p. 269 – 274, 2005.
- ⁵⁵ BRETT, A.M.; BRETT, C.M.A.; *Eletroquímica: Princípios, Métodos e Aplicações*; Almedina, Coimbra – Portugal, 1996.
- ⁵⁶ FOTOUHI, L.; FATOLLAHZADEH, M.; HERAVI, M. M.; Electrochemical Behavior and Voltammetric Determination of Sulfaguanidine at a Glassy Carbon Electrode Modified with a Multi-Walled Carbon Nanotube; *International Journal of Electrochemical Science*, v. 7, p. 3919-3928, 2012.
- ⁵⁷ AMARE, M.; NIKODIMOS, Y.; Electrochemical Determination of Metronidazole in Tablet Samples Using Carbon Paste Electrode, *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, v. 2016, ID 3612943.